

Quantifizierung der Vasa Vasorum in der peripheren Gefäßstrombahn humaner Unterschenkelamputate

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen
vorgelegt von Annina Burkhardt
aus Gießen

Gießen 2013

Aus dem medizinischen Zentrum für Radiologie
Abteilung für Diagnostische Radiologie
des Universitätsklinikums
Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen
Leiterin: Prof. Dr. med. G. Krombach

Betreuer: Prof. Dr. Langheinrich
Gutachter: Prof. Dr. Böning

Tag der Disputation 06.06.2014

1 EINLEITUNG **1**

1.1 PERIPHERE ARTERIELLE VERSCHLUSSKRANKHEIT **1**

1.1.1 DEFINITION 1

1.1.2 EPIDEMIOLOGIE 2

1.1.3 DIAGNOSE 3

1.1.3.1 Bildgebende Verfahren 5

1.1.4 THERAPIE DER PERIPHEREN ARTERIELLEN VERSCHLUSSKRANKHEIT 7

1.1.4.1 Konservative Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit 7

1.1.4.2 Interventionelle Therapie der pAVK 10

1.1.4.3 Kritische Extremitätenischämie 11

1.2 ATHEROSKLEROSE **13**

1.2.1 ÄTIOLOGIE DER ATHEROSKLEROSE 13

1.2.2 PATHOPHYSIOLOGIE DER ATHEROSKLEROSE 14

1.2.3 VULNERABLE PLAQUE 16

1.2.4 THERAPIE DER ATHEROSKLEROSE 19

1.3 VASA VASORUM **21**

2 MATERIAL UND METHODEN **24**

2.1 UNTERSUCHUNGSMATERIAL **24**

2.2 DUAL-SOURCE-COMPUTERTOMOGRAPHIE **24**

2.3 MIKRO-COMPUTER-TOMOGRAPHIE **26**

2.3.1 TECHNISCHE GRUNDLAGEN 26

2.3.2 BILDAKQUISITION 29

2.3.3 BILDBERECHNUNG 30

2.3.4 BILDANALYSE 30

2.3.4.1 Auszählung und Planimetrierung der adventitiellen Vasa Vasorum 31

2.3.4.2 Messung des Gefäßdurchmessers 31

2.3.4.3 Messung des luminalen Durchmessers 32

2.3.4.4 Planimetrierung der luminalen Oberfläche 32

2.3.4.5	Berechnung der Plaqueoberfläche	32
2.3.4.6	Berechnung des Gefäßwand/Lumen Quotienten	32
2.4	HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGSMETHODEN	33
2.5	BILDPAAR-ERSTELLUNG (HISTOLOGIE/MIKRO-CT)	33
2.6	STATISTISCHE ANALYSE	34
3	ERGEBNISSE	35
3.1	DATEN AUS DEM MIKRO-CT	35
3.1.1	ABSORPTIONSWERTE	37
3.1.2	STATISTISCHE ANALYSE DER MIKRO-CT DATEN	38
3.1.2.1	Transmurales Verteilungsmuster der Vasa Vasorum	38
3.1.2.2	Anzahl der Vasa Vasorum im Verhältnis zur Plaquefläche	39
3.1.2.3	Vasa Vasorum im Verhältnis zum Gefäßdurchmesser	40
3.1.2.4	Plaque Oberfläche im Verhältnis zum Gefäßdurchmesser	41
3.1.2.5	Verhältnis der Dicke der Gefäßwand zum Gefäßlumen	42
4	DISKUSSION	43
4.1	NEOVASKULARISIERUNG IM ATHEROSKLEROTISCH VERÄNDERTEN STROMGEBIET	43
4.2	BILDGEBUNG	45
4.3	VERGLEICH MIT ANDEREN ARBEITEN	47
4.4	AUSBLICKE	48
5	SCHLUSSFOLGERUNG	50
6	EINSCHRÄNKUNGEN	51
7	ZUSAMMENFASSUNG	52
7.1	DEUTSCH	52
7.2	ENGLISCH	53
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	54

<u>9</u>	<u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>56</u>
<u>10</u>	<u>TABELLENVERZEICHNIS</u>	<u>57</u>
<u>11</u>	<u>QUELLENVERZEICHNIS</u>	<u>58</u>
<u>12</u>	<u>PUBLIKATIONEN</u>	<u>66</u>
<u>13</u>	<u>ERKLÄRUNG</u>	<u>67</u>
<u>14</u>	<u>DANKSAGUNG</u>	<u>68</u>

1 Einleitung

Die Atherosklerose mit ihren Folgeerkrankungen, wie beispielsweise der koronaren Herzerkrankung (KHK), dem ischämischen zerebralen Insult und der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK), ist in Deutschland eine der häufigsten Todesursachen im Erwachsenenalter. Wie das Statistische Bundesamt mitteilt verstarben in Deutschland im Jahr 2010 insgesamt 858 768 Menschen, davon 409 022 Männer und 449 746 Frauen. Im letzten Jahr, wie in den Vorjahren war eine Herz-/Kreislaufkrankung, mit 41,1 % aller Sterbefälle die häufigste Todesursache.

1.1 Periphere arterielle Verschlusskrankheit

1.1.1 Definition

Bei der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit handelt es sich um eine Einschränkung der Durchblutung der die Extremitäten versorgenden Arterien, seltener der Aorta. Dies kann graduell durch eine Stenose oder komplett durch Okklusion bedingt sein. In etwa 95 % der Fälle wird die chronische pAVK durch Atherosklerose bzw. durch ihre symptomatische Form die Atherothrombose bedingt. Neben den großen peripheren Gefäßen sind häufig auch kleinere, die Haut und die Muskulatur versorgende Gefäße mit betroffen (Diehm and Trampisch, 2009). Die Einteilung der pAVK erfolgt nach Fontaine oder Rutherford. Die klinischen Stadien werden mit dem Begriff Claudicatio intermittens („Unterbrochenes Hinken“, „Schaufensterkrankheit“) bzw. im Spätstadium mit „kritische Extremitätenischämie“ bezeichnet.

Tabelle 1:**Klassifikation der pAVK nach den Fontaine-Stadien und Rutherford-Kategorien**

<u>Fontaine</u>		<u>Rutherford</u>		
Stadium	Klinisches Bild	Grad	Kategorie	Klinisches Bild
I	asymptotisch	0	0	asymptotisch
IIa	Gehstrecke > 200 m	I	1	leichte Claudicatio intermittens
IIb	Gehstrecke < 200 m	I	2	mäßige Claudicatio intermittens
		I	3	schwere Claudicatio intermittens
III		II	4	ischämischer Ruheschmerz
IV		III	5	kleinflächige Nekrose
		III	6	großflächige Nekrose

1.1.2 Epidemiologie

Die Prävalenz der asymptomatischen pAVK in der Bevölkerung kann man nur mit Hilfe nicht invasiver Diagnostik abschätzen. Die Gesamtprävalenz für eine pAVK in der Allgemeinbevölkerung liegt bei 3-10 % und steigt auf 15-20 % bei über 70-jährigen (Criqui et al., 1985, Diehm et al., 2004). Die Prävalenz der Claudicatio intermittens steigt von 3 % bei 40-jährigen auf 6 % bei den 60-jährigen. In Gruppen mit jüngerem Patientengut sind Männer weitaus häufiger betroffen, wobei sich die Verteilung zwischen den Geschlechtern mit zunehmendem Alter angleicht (Norgren et al., 2007). Bereits im Jahr 1999 konnten in der amerikanischen PARTNERS Studie Hinweise darauf gefunden werden, dass Patienten mit pAVK medikamentös unterbehandelt sind (Hirsch et al., 2001). Die getABI Studie aus dem Jahr 2005 zeigt, dass auch in Deutschland die Patienten mit pAVK medikamentös nicht adäquat versorgt sind im Vergleich zu Patienten mit KHK. Die Patienten mit koronarer Herzkrankheit erhielten in zwei von drei Fällen einen Thrombozytenfunktionshemmer, während dies aber nur bei der Hälfte der Patienten mit pAVK der Fall war. Auch bei Statinen zur Lipidsenkung konnte ein Unterschied gezeigt werden. So erhielten 46 % der Patienten mit KHK Statine aber nur 23 % der Patienten mit symptomatischer pAVK. Noch ausgeprägter war der Unterschied in der Behandlung mit Betarezeptorblockern (2005, Lange et al., 2004). Dies bestätigen auch die Ergebnisse des internationalen REACH-Registers (Bhatt et al., 2006).

1.1.3 Diagnose

Zur Diagnosestellung sollte zunächst eine ausführliche Anamnese erfolgen sowie eine Untersuchung bestehend aus Inspektion, seitenvergleichender Palpation, Auskultation der Extremitätenarterien sowie dem Ratschow Test (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse2) (2009).

Das Tasten der Pulse zeigte sich häufig als unzuverlässig und fehlerbehaftet (Khan et al., 2006). Trotzdem wird die Diagnose in der Praxis häufiger anhand fehlender Extremitätenpulse als aufgrund der Claudicatio-Symptomatik gestellt (Norgren et al., 2007). Des Weiteren ist es von Bedeutung die pAVK von einer Neuropathie zu unterscheiden.

Deshalb sollen hinsichtlich des Hautstatus Integrität, Tugor, Schweißbildung, Farbe, Muskelatrophie, Deformität und Temperatur beurteilt werden (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse2) (2009).

Besonders beim Diabetiker ist es , im Hinblick auf das weitere Vorgehen, wichtig zwischen primär neuropathischer und primär ischämischer Genese der Beschwerden zu unterscheiden (Boulton et al., 1998).

Um die klinische Symptomatik und die Einschränkungen der Gehstrecke objektiv zu quantifizieren und um eine Erfolgsbeurteilung nach Behandlung möglich zu machen, ist eine Messung der Gehstrecke mittels Metronom auf dem Laufband nötig.

Dabei sollten folgende Parameter ermittelt werden:

- Die maximale schmerzfreie Gehstrecke
- Die maximale Gehstrecke
- Die absolute Gehzeit
- Der Knöchel-Arm-Index (ABI) vor und nach Belastung, wobei ein Abfall des ABI um 20 % als wegweisend für die Diagnose der pAVK gilt (Huppert et al., 2009).

Der ABI (ankle-brachial-index) gehört zu den, auch im ambulanten Bereich leicht durchführbaren, Basisuntersuchungen (Diehm et al., 2005). Der ABI ist, bei der Messung durch verschiedene Personen unterschiedlichen Ausbildungsstandes, gut reproduzierbar (Holland-Letz et al., 2007). Dabei wird der systolische Blutdruck nach

Riva-Rocci an beiden Armen gemessen. Zur Berechnung des ABI wird der Mittelwert der Messungen bzw., wenn eine Differenz von mehr als 10 mmHg besteht, der höhere Druck verwendet. An den Beinen wird der systolische Blutdruck mittels Dopplersonde gemessen. Dabei wird der Verschlussdruck der A. dorsalis pedis und der A. tibialis posterior ggf. auch der A. fibularis ermittelt. Die Messwerte werden für beide Beine getrennt erfasst. Danach wird der ABI für jede Seite getrennt berechnet, der Knöchelarteriendruck wird dabei durch den mittleren Armarteriendruck geteilt. Allerdings geben die Leitlinien der American Heart Association keine Auskunft darüber, ob zur Berechnung des ABI der höchste oder der niedrigste Verschlussdruck im Bereich des Beines genommen werden soll. Doch konnten Schröder et al. zeigen, dass sich durch Verwendung des niedrigsten arteriellen Verschlussdrucks die Sensitivität der Methode in Bezug auf die Diagnostik einer pAVK von 68 % auf 93 %, bei konstanter Spezifität steigern lässt (Schroder et al., 2006). Daraus ergibt sich, dass der niedrigste Verschlussdruck als diagnostisch wichtigerer Wert betrachtet werden muss (Espinola-Klein et al., 2008).

Ist eine gute Kollateralisierung vorhanden ist es möglich, dass trotz ausgeprägter Atherosklerose der Beingefäße ein ABI > 0,9 in Ruhe gemessen wird. In diesem Fall sollte der ABI unter Belastung bestimmt werden. Ist der ABI nach Belastung < 20 % vom Ausgangswert oder dauert es bis zur Normalisierung länger als eine Minute, kann von einer pAVK ausgegangen werden (Rose, 2000).

Tabelle 2:

ABI-Kategorien zur Abschätzung des pAVK Schweregrades

ABI-Wert	Schweregrad der pAVK
> 1,3	falsch hohe Werte
> 0,9	Normalbefund
0,75-0,9	leichte pAVK
0,5-0,75	mittelschwere pAVK
< 0,5	schwere pAVK

In den aktuellen Leitlinien wird ab einem Wert von < 0,9 von einem pathologischen Zustand ausgegangen. Je niedriger der Wert ist, desto geringer ist der Blutfluss im Bein. Außerdem konnte gezeigt werden, dass der ABI mit dem Risiko einer

kardiovaskulären Erkrankung und dem Risiko an ihr zu versterben umgekehrt korreliert (Diehm et al., 2006, Golomb et al., 2006).

Zur Beurteilung der Einschränkungen im Alltag können auch patientenbasierte validierte Fragebögen herangezogen werden.

1.1.3.1 Bildgebende Verfahren

Im Bereich der bildgebenden Verfahren stehen zur Darstellung der Gefäße zurzeit mehrere Methoden zur Verfügung.

Duplexsonographische Untersuchung der Gefäße

Die Duplexsonographie ist nicht invasiv und hat bei erfahrenen Untersuchern eine hohe Sensitivität und Spezifität. Differenzialdiagnostisch können damit Vaskulitiden, Aneurysmen und Gefäßverschlüsse erfasst werden (Collins et al., 2007, Schlager et al., 2007). Leider ist die Untersuchung auch stark vom Untersuchenden und dessen Erfahrung abhängig. Trotzdem ermöglicht die Untersuchung eine gute Planung der weitergehenden Diagnostik und Therapie (Bostrom et al., 2001). In den neuen Leitlinien zur Behandlung der pAVK wird die farbkodierte Duplexsonographie (FKDS) im Rahmen eines Algorithmus zur Diagnose der pAVK empfohlen.

Die farbkodierte Duplexsonographie (FKDS) ist die diagnostische Methode der ersten Wahl zur Abklärung der Aorta und ihrer Äste, sowie der Becken- und Beinarterien. Ihre Aussagekraft ist von der Expertise des Untersuchers, dem verwendeten Gerät und den individuellen Gegebenheiten des Patienten abhängig (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1)(2009).

Intraarterielle digitale Subtraktionsangiographie

Die intraarterielle digitale Subtraktionsangiographie (DSA) gilt als Goldstandard zur Gefäßdarstellung. Da sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität nicht invasiver Verfahren zur Gefäßdiagnostik zunehmen, wird sie als rein diagnostische Maßnahme in letzter Zeit verdrängt. Sollten allerdings vor Ort keine Schnittbildverfahren zur Verfügung stehen, ist eine DSA vor gefäßchirurgischen Eingriffen als rein diagnostische Maßnahme zu rechtfertigen. Vorteile der DSA ist die Möglichkeit zur gleichzeitigen Intervention und der besseren Darstellung von In-Stent-Stenosen. Nachteile sind die

Invasivität sowie die Komplikationen, die aus der Kontrastmittelgabe resultieren können (Norgren et al., 2007).

Computertomographie

Die computertomographische Angiographie ist, seit der flächendeckenden Verfügbarkeit von Mehrzeilen-CT, als untersucherunabhängige Untersuchungsmethode mit guter Spezifität und Sensitivität etabliert (Ouwendijk et al., 2006). Durch die CT ist eine dreidimensionale Gefäßdarstellung sowie eine Darstellung der umgebenden Strukturen bei einer sehr kurzen Untersuchungszeit möglich. Nachteilig bei der Untersuchung sind die Strahlenbelastung sowie Komplikationen durch jodhaltiges Kontrastmittel.

Magnetresonanz-Angiographie

Auch die Magnetresonanz-Angiographie (MR-Angiographie) ist eine nichtinvasive Methode zur Darstellung der Gefäße (Collins et al., 2007). Als Standard zur Darstellung der Becken-Bein-Gefäße gilt zurzeit die kontrastangehobene MR-Angiographie. Dabei wird nacheinander die aortoiliakale, die femorale und die crurale Region nativ untersucht und im Anschluss die Messung nach Kontrastmittelgabe wiederholt und voneinander subtrahiert. Die Subtraktionsbilder werden als Maximumintensitätsprojektionen errechnet und können so ausgewertet werden. Die Vorteile liegen in der besseren Verträglichkeit des in der Magnetresonanztomographie (MRT) verwendeten Kontrastmittels und in der Vermeidung einer Strahlenexposition im Gegensatz zur CT. Allerdings ist die Untersuchung bisweilen aufgrund von metallischen Implantaten nicht möglich oder die Bilder sind schlecht zu beurteilen (Huppert et al., 2009).

Bei uneindeutigen Befunden sowie vor operativen Maßnahmen ist ein untersucherunabhängiges bildgebendes Verfahren obligat. Hierbei ist der MR-Angiographie, falls verfügbar, der Vorzug zu gebe. (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse2) (2009).

1.1.4 Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit

Bei der Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit stehen in Abhängigkeit vom klinischen Stadium der Erkrankung

- die Risikoreduktion kardiovaskulärer Erkrankungen,
- die symptomatische Besserung der schmerzfreien und maximalen Gehstrecke zum Erhalt der Mobilität und Lebensqualität oder
- der Erhalt der Gliedmaßen im Vordergrund (Norgren et al., 2007, Hirsch et al., 2006).

Bei der Behandlung der Claudicatiobeschwerden kann die Indikation zu invasiven Therapieoptionen enger gefasst werden, da sich im Langzeitverlauf keine Vorteile gegenüber einer konservativen Behandlung ergeben haben. Die Mortalität sowie die Durchgängigkeit der Beinarterien werden durch invasive Maßnahmen nicht positiv beeinflusst (Jansen et al., 2003).

Endovaskulärer Behandlung soll der Vorzug gegeben werden, wenn kurzfristig und langfristig die gleiche symptomatische Verbesserung erzielt werden kann wie bei einem gefäßchirurgischen Eingriff (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1) (2009).

1.1.4.1 Konservative Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit

Zur konservativen Therapie zählen insbesondere die Reduktion von Risikofaktoren. Die Behandlung umfasst Gehtraining, Gewichtsreduktion bei Übergewicht, Nikotinkarenz bei Rauchern sowie die Behandlung der arteriellen Hypertonie, Hypercholesterinämie und des Diabetes mellitus (Hirsch et al., 2001, Bendermacher et al., 2005, Ouriel, 2001).

Rauchen

Rauchen ist der wichtigste Risikofaktor der pAVK. Die Anzahl der pack years ist mit dem Schweregrad der pAVK, einer erhöhten Amputationsrate, dem peripheren Prothesenbypassverschluss sowie der Mortalität assoziiert (Hirsch et al., 1997). Die Aufgabe des Rauchens beeinflusst nachweislich die Progredienz der pAVK (Willigendael et al., 2004).

Hyperlipidämie

Unabhängige Risikofaktoren für das Auftreten der pAVK sind erhöhte Werte für das Gesamtcholesterin, ein erhöhter LDL-Cholesterinspiegel sowie eine Erhöhung der Triglyceride und des Lipoprotein a. Durch die Gabe von Simvastatin konnte die Gesamtmortalität und die Rate an kardialen und vaskulären Ereignissen, auch bei Patienten mit normalen Cholesterinwerten, gesenkt werden (Collins et al., 2003).

Bei pAVK-Patienten soll das LDL-Cholesterin < 100 mg/dl betragen (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1) (2009).

Zur Sekundärprävention von kardiovaskulären Ereignissen sind bei Patienten mit pAVK CSE-Hemmer indiziert (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1) (2009).

Diabetes mellitus

Jede HbA1c-Erhöhung um 1 % geht mit einer 28 %-igen Erhöhung des Risikos für eine manifeste pAVK einher. Außerdem steigert ein Diabetes das Risiko an einer pAVK zu erkranken um das 3-4 fache und führt zu einer Verdopplung des Claudicatio-Risikos (Dolan et al., 2002). Unter einer multimodalen Behandlung (Einstellung des Diabetes, Gabe von CSE-Hemmern und Thrombozytenaggregationshemmern, sowie Blutdruckeinstellung) konnte die Amputationsrate bei Diabetikern gesenkt werden (Gaede et al., 2003).

Die Blutzuckerstoffwechsellaage ist bei Patienten mit pAVK zu kontrollieren und nahe-normoglykämisch einzustellen. Ein HbA1c < 7% ist das Behandlungsziel bei Patienten mit pAVK (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1) (2009).

Hypertonie

Ein erhöhter Blutdruck verdoppelt das Risiko an einer pAVK zu erkranken. Eine Behandlung der arteriellen Hypertonie reduziert dabei auch die kardiovaskuläre Mortalität (Mehler et al., 2003). Patienten mit Hypertonie und pAVK werden zur Blutdrucksenkung ACE-Hemmer empfohlen (Sleight, 2000), Betablocker reduzieren dabei zusätzlich die Häufigkeit kardialer Ereignisse (Mehler et al., 2003, Bendermacher et al., 2005)

Bei Patienten mit pAVK und arterieller Hypertonie ist der Blutdruck zur Reduktion der kardiovaskulären Mortalität zu behandeln. Der Zielblutdruck liegt bei < 140/90 mmHg, bei Patienten mit Diabetes < 130/80 mmHg. Betablocker sind nicht kontraindiziert (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1) (2009).

Gehtraining bei pAVK

Patienten mit pAVK haben eine deutlich herabgesetzte Gehstrecke auch bei langsamer Laufgeschwindigkeit. Dies führt zu einer Einschränkung im täglichen Leben und einer geminderten Lebensqualität. Bei Patienten mit Claudicatio-Symptomatik ist das strukturierte Gehtraining die wichtigste nicht invasive Therapieform (Garg et al., 2006). Außerdem kommt es neben der Verbesserung der Gehstrecke häufig auch zu einer positiven Entwicklung der Begleiterkrankungen wie Glukose- und Fettstoffwechselstörungen (Stewart et al., 2002).

Täglich sollte ein Intervall-Gehtraining über 60 min mit 5- bis 15-minütigen Intervallen durchgeführt werden, wobei die Belastungsintensität möglichst hoch sein sollte bis zum Claudicatio-Schmerz. Studien zeigen eine Steigerung der Gehstrecke um etwa 200 % nach zwölf Wochen (Katzel et al., 2001). Die Langzeitergebnisse sind denen von Gefäßinterventionen gleichwertig (Steinacker, 2003).

Strukturiertes Gehtraining unter Aufsicht und unter regelmäßiger Anleitung soll allen pAVK-Patienten als Bestandteil der Basisbehandlung angeboten werden (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1). Strukturierte Trainingsprogramme unter regelmäßiger Anleitung sind wirksamer als unstrukturiertes Gehtraining (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1) (2009).

Medikamentöse Therapie

Im Vordergrund der medikamentösen Therapie steht die Verbesserung der Gehstrecke und damit der Lebensqualität.

Patienten mit pAVK wird eine lebenslange Therapie mit Thrombozytenfunktionshemmern empfohlen. Diese reduzieren ischämische Ereignisse ebenso wie die Rate kardiovaskulärer Ereignisse. Da bei Patienten mit einer pAVK häufig auch von anderen Gefäßschäden ausgegangen werden muß, wird generell eine Antikoagulation mit ASS empfohlen (Clagett et al., 2004, Cassar et al., 2003).

Trotz medikamentöser Behandlung sollen die Patienten weiter Gehtraining im Rahmen ihrer Möglichkeiten anstreben (Heidrich and Lawall, 2009).

1.1.4.2 Interventionelle Therapie der pAVK

Kommt es nach konservativer Therapie mit Gehtraining und medikamentöser Therapie nicht zu einer Verbesserung der maximalen Gehstrecke, kann eine interventionelle Therapie der Beschwerden angestrebt werden, auch wenn die Behandlungsergebnisse sich nach einem Jahr nicht von denen der nicht invasiven Therapie unterscheiden (Jamsen et al., 2002).

Interventionelle Behandlungen werden empfohlen nach erfolgloser konservativer Therapie bei Patienten mit Claudicatio, wenn eine Verbesserung der Symptomatik und der Lebensqualität zu erwarten ist (Empfehlungsgrad B, Evidenzklasse 2) (2009).

In Fall-Kontroll-Studien zur interventionellen Behandlung von Claudicatio intermittens Beschwerden konnte gezeigt werden, dass man iliakal mit einer Offenheitsrate von 71 % nach 5 Jahren rechnen kann (Norgren et al., 2007). Im femoropoplitealen Stromgebiet liegen die Offenheitsraten nach 5 Jahren bei 50 % (Lawall and Diehm, 2008).

Insgesamt liegen die Offenheitsraten bei dilatierten Stenosen nach einem Jahr bei 77 %, nach Rekanalisation bei 65 %. Bei interventionellen Rekonstruktionen liegt die Offenheitsrate nach drei Jahren bei 50 %, nach 5 Jahren zwischen 40 und 50 % (Norgren et al., 2007).

Es gibt keine klaren Empfehlungen, ob nach einer peripheren transluminalen Angiographie (PTA) eine Stentimplantation sinnvoll ist. Meist liegt die Entscheidung darüber bei dem interventionell Tätigen (Henry et al., 2000).

Nur für den Bereich der Beckenarterien liegt eine Empfehlung vor :

Eine zusätzliche Stentimplantation nach PTA ist im Bereich der Beckenarterien indiziert, wenn das Ergebnis der PTA suboptimal ist oder verfehlt wurde (persistierende Reststenose >50 %, Recoiling, flußlimitierende Dissektion) (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1) (2009).

Eine Primäre Stentimplantation ist als initiale Therapie für die Beckenarterien bei Stenosen und Okklusionen der A. iliaca communis zu empfehlen (Empfehlungsgrad A, Evidenzklasse 1) (2009).

Bei der Stentimplantation sollte bedacht werden, ob der Patient in Zukunft einer gefäßchirurgischen Intervention zugeführt werden soll, so dass Gefäßsegmente, die sich als essentiell für Bypässe und Anastomosen erweisen könnten, verschont werden sollten. Außerdem können, besonders in biomechanisch stark belasteten Gefäßabschnitten, Stentfrakturen auftreten, die im Verlauf häufiger zu Stentverschlüssen oder Stentstenosen führen (Babalik et al., 2003, Scheinert et al., 2005).

1.1.4.3 Kritische Extremitätenischämie

Der Begriff der Extremitätenischämie wird für Patienten verwendet, die an einem chronischen ischämischen Ruheschmerz leiden und bei denen Ulzerationen oder Gangrän aufgrund einer nachgewiesenen arteriellen Verschlusskrankheit vorliegen. Da diese Patientengruppe eine besonders hohe kardiovaskuläre Komorbidität aufweist, ist bei ihnen mit einem erhöhten Operationsrisiko zu rechnen. Deshalb wird häufig eine primär interventionelle Therapie angestrebt, obwohl diese häufiger Folgebehandlungen nach sich zieht. Bei der interventionellen Therapie der kritischen Extremitätenischämie zeigen sich gute klinische Erfolge mit kurzfristig hohen Offenheitsraten von bis zu 95 % (Lofberg et al., 2001, Faglia et al., 2002). Das Ziel der Behandlung bleibt allerdings ein amputationsfreies Überleben bei hoher Mortalitätsrate dieser Hochrisikopatienten. Trotz niedriger langfristiger Offenheitsraten nach interventioneller Therapie (42-55 % nach 5 Jahren) ist die Rate des Extremitätenerhalts hoch (bis 91 %) (Dorros et al., 2001).

Patienten in der Gefäßchirurgie sind zunehmend multimorbid. Es ist davon auszugehen, dass es mehr Patienten mit kritischer Extremitätenischämie geben wird, die endovaskulär vorbehandelt und ausbehandelt sind oder bei denen eine Intervention versagt hat. Die zukünftigen Operationen werden darum anspruchsvoller werden. Die Prognose für diese Patienten wird im weiteren Verlauf schlechter (Bockler et al., 2005, Conte et al., 2001). Aufgrund der zunehmenden schwerwiegenden

Begleiterkrankungen werden perioperative Mortalität und Morbidität in der nächsten Zeit zunehmen.

Ein Großteil der Patienten mit fortgeschrittenen Gefäßerkrankungen und kritischer Extremitätenischämie sind Diabetiker mit einem Mehretagenproblem. Dabei ist die pedale Strombahn aber häufig noch erhalten. Die Atherosklerose ist in diesen Fällen nicht diabetesspezifisch, weshalb die Therapieoptionen sich von denen zu Nicht-Diabetikern nicht unterscheiden (van der Feen et al., 2002, Panayiotopoulos et al., 1997).

1.2 Atherosklerose

1.2.1 Ätiologie der Atherosklerose

Bei der Atherosklerose handelt es sich um pathologische Veränderungen der arteriellen Gefäßwand, wobei es zu Einschränkungen der Gefäßfunktion kommt. Ursachen der Veränderungen sind Folge eines multifaktoriellen Geschehens, das eine akute und/oder chronische Entzündung der Gefäßwand auslöst (Langheinrich and Bohle, 2005).

Im Jahr 1981 wurden erstmals, im Rahmen der Framingham-Studie, die für die Atherosklerose bedeutsamen Faktoren mit dem Begriff „Risikofaktor“ belegt. Damit werden Verhaltensweisen, Umwelteinflüsse und körperliche Merkmale umschrieben, welche einen Einfluss auf die Atheroskleroseentwicklung haben (Gordon et al., 1981).

Zu den beeinflussbaren Risikofaktoren gehören Bewegungsmangel, Adipositas, Nikotinabusus, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, erhöhter Cholesterinspiegel, erhöhte Triglyceride und andere bislang noch nicht identifizierte Faktoren. Aber auch nicht beeinflussbare Faktoren wie Alter, männliches Geschlecht und genetische Veranlagung spielen eine Rolle.

In den meisten Fällen findet man eine Kombination mehrerer Risikofaktoren, nur selten kommen diese isoliert vor. Beim Auftreten von mehreren kardiovaskulären Risikofaktoren vervielfacht sich das Risiko von atherosklerotischen Komplikationen erheblich (Martin et al., 1986, Brasen and Niendorf, 1997, Ross, 1999).

Es werden verschiedene Stadien der Atherosklerose unterschieden. Die American Heart Association (AHA) hat zur Vereinheitlichung der atherosklerotischen Plaqueterminologie eine auf histologisch-morphologischen Kriterien beruhende Klassifikation eingeführt.

Tabelle 3:

Einteilung atherosklerotischer Läsionen nach der Klassifikation der American Heart Association (AHA) (Stary, 1992, Stary, 2000)

Stadium	Bezeichnung	Zusammensetzung
I	Initiale Läsion	Intimale Lipoproteine und vermehrte Makrophagen
II	„Fatty streak“	Typ I + Makrophagenakkumulation und Anreicherung intrazellulärer Lipide, Ausbildung einer Schicht von Schaumzellen
III	Präatherom	Typ II + isolierte, extrazelluläre Lipidpools
IV	Atherom	Typ III + konfluierende extrazelluläre Lipidpools (Atheromkern) + strukturelle Intimaschäden
Va	Fibroatherom	Typ IV + fibröse Kappe + Nekrosen im Kern, Ausbildung von fibromuskulärer Gewebeschicht
Vb	Kalzifizierte Läsion	Jede Fortgeschrittene Va Läsion, die vorwiegend aus kalzifizierten Arealen besteht
Vc	Fibrotische Läsion	Jede Fortgeschrittene Va Läsion, die vorwiegend aus Kollagen besteht
Vla	Thrombo-hämorrhagische Läsion	Typ V + thrombotisches Material und/oder Einblutung und/oder Erosion oder Fissur der fibrinösen Kappe
VIb		Typ VI Läsion mit hämorrhagischer Plaqueeinblutung
VIc		Typ VIa Läsion mit okklusiv thrombotischer Komponente

1.2.2 Pathophysiologie der Atherosklerose

Bei der Entstehung der Atherosklerose handelt es sich um einen komplexen Prozess der durch eine inflammatorische Reaktion der Gefäßwand charakterisiert ist (Libby, 2001). Nach der "Response to Injury" Hypothese von Russel Ross stellt die Atherosklerose eine entzündliche Reaktion des Gefäßes auf lokale Verletzung und/oder Störung der anatomischen und funktionellen Eigenschaften der normalen Gefäßwand dar (Ross, 1999). Im frühen Stadium der Atherosklerose handelt es sich um eine endotheliale Dysfunktion (Giannotti and Landmesser, 2007).

Das intakte Endothel ist in der Lage Endothel-Derived-Relaxing-Faktor freizusetzen. Dadurch erfüllt es vielfältige Aufgaben wie beispielsweise die Gefäßdilatation, die Hemmung der Thrombozytenaggregation und der Leukozytenadhäsion sowie eine Hemmung der Proliferation und Migration von glatter Gefäßmuskulatur (Barton and Haudenschild, 2001). Des weiteren hemmt ein intaktes Endothel das Übertreten von

Plasmalipiden. Die Integrität der endothelialen Funktion ist also entscheidend für die Unterdrückung des atherosklerotischen Prozesses.

Eine endotheliale Dysfunktion steht somit am Beginn der Atheroskleroseentwicklung. Patienten mit einer Hypercholesterinämie (Zeiber et al., 1991a, Zeiber et al., 1991b) sowie starke Raucher (Zeiber et al., 1995) weisen eine Verminderung der endothel-abhängigen Vasodilatation, sowohl der großen epikardialen Gefäße, als auch der Widerstandsgefäße auf, ohne dass angiographisch nachweisbare morphologische Veränderungen der Gefäße vorliegen. Des weiteren geht mit dem Funktionsverlust des Endothels die rein mechanische Barriere für den Übertritt von Substanzen aus dem vaskulären in den subendothelialen Raum verloren.

Im Verlauf der Erkrankung erhöht sich die Endothelpermeabilität für Lipide und weitere zirkulierende Substanzen und es kommt zu einer Aktivierung der Endothelzellen, die zu einer Exprimierung von Rezeptormolekülen auf der Endothelzelloberfläche führt. Dadurch werden im Verlauf Blutzellen wie Monozyten und T-Lymphozyten über Adhäsionsmoleküle zunächst temporär und später dauerhaft an die Endothelzelloberfläche gebunden. Durch die Dysfunktion des Endothels kommt es zur Bildung der sogenannten „Fatty streaks“ (Libby et al., 2002) (Abb.1).

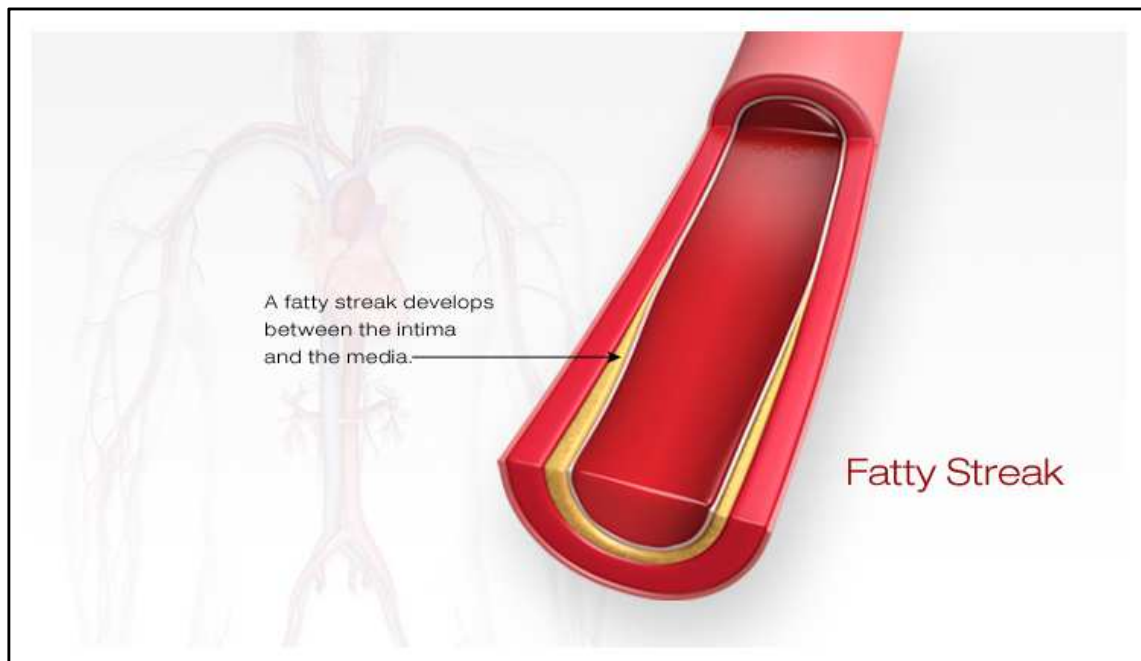


Abbildung 1: Atherosklerotische Läsion Stadium II (American Heart Association, 2012).

Im nächsten Schritt der Atherogenese kommt es durch Lipidbeladung von Makrophagen zur Ausbildung von sogenannten Schaumzellen, die charakteristisch für atherosklerotische Plaque sind und eine histologisch nachweisbare Veränderung der Gefäßwand darstellen (Libby et al., 2002, Stary, 1992).

Im Verlauf der Erkrankung kommt es zur Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Chemokine, wie z.B. Tumor-Nekrose-Faktor-alpha ($\text{TNF}\alpha$), Interleukinen und Wachstumsfaktoren aus lipidbeladenen Makrophagen und T-Lymphozyten (Blake and Ridker, 2002). Dadurch werden glatte Muskelzellen in der Media aktiviert und wandern in die entstehenden intimalen Läsionen aus, so kommt es zu einer intimalen Hyperplasie mit Einengung des Gefäßlumens.

Genau wie Endothelzellen sind auch glatte Muskelzellen in der Lage Botenstoffe zu bilden und auszuschütten und damit den inflammatorischen Prozess in Gang zu halten (Young et al., 2002) (Abb.2).

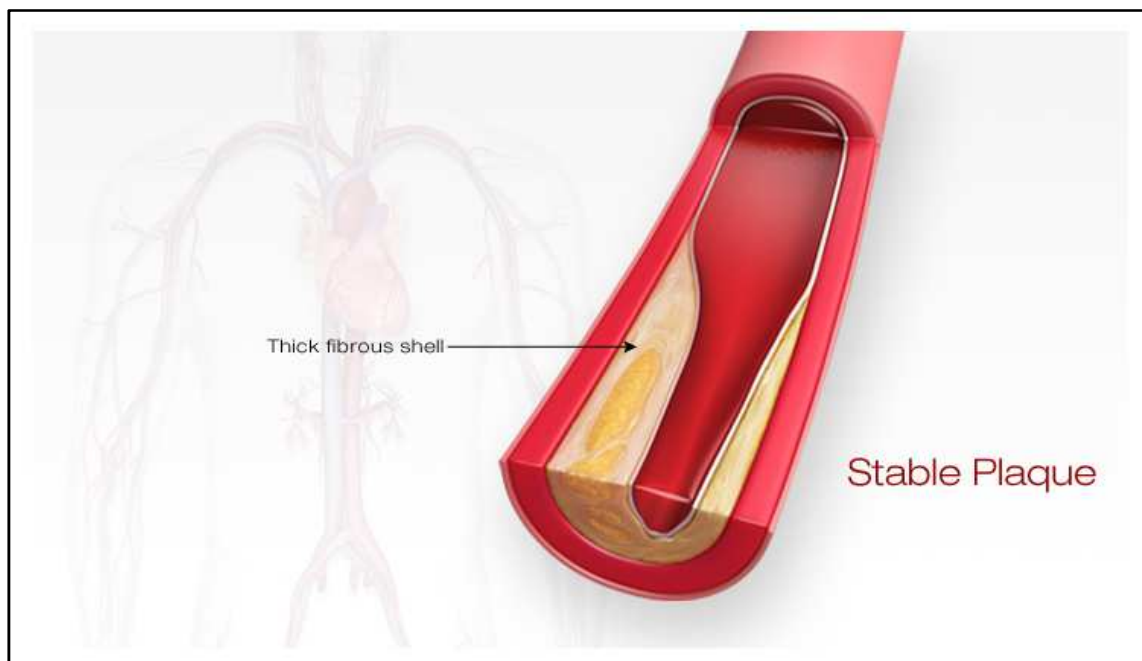


Abbildung 2: Stabile Plaque: Für die Stabilität der Plaque gilt, je kleiner der Lipidkern und je dicker die Schicht aus glatten Muskelzellen über ihm ist, desto stabiler ist die Plaque (American Heart Association, 2012).

1.2.3 Vulnerable Plaque

Die gefährlichste Form der atherosklerotischen Plaque ist die sogenannte vulnerable Plaque.

Sie wird durch die AHA als Plaque-Typ IV und Va eingeteilt. Im Stadium IV entsteht ein lipidreicher Kern, der Atheromkern. Im Verlauf der Erkrankung kommt es zur Ausbildung einer fibrösen Kappe (fibrous cap), die aus Endothel und einigen wenigen glatten Muskelzellen besteht (Davies et al., 1993, Rudd et al., 2005). Diese Kappe soll eine Thrombozytenaggregation an dem Lipidkern verhindern.

Der große Lipidkern macht mindestens die Hälfte des Plaquevolumens aus. Das Verhältnis von glatten Muskelzellen zu Makrophagen verändert sich mit der Größenzunahme des Lipidkerns zugunsten der infiltrierenden Makrophagen (Davies et al., 1993) (Abb.3).

Erosionen und Fissuren der fibrösen Kappe bewirken eine Aktivierung der Gerinnungskaskade durch Gewebsfaktoren. Derartige thrombotische Komplikationen können aufgrund postthrombotischer Organisationsvorgänge zu einem episodischen Plaquewachstum führen und in der Folge, zu einem partiellen oder vollständigen Gefäßverschluss.



Abbildung 3: Vulnerable Plaque mit großem Lipidkern und dünner fibröser Kappe (American Heart Association, 2012)

Rupturen der fibrösen Kappe oder Ulzerationen einer fibrösen Plaque können schnell zu Thrombosen führen und treten bevorzugt an dünnen Stellen der fibrotischen Kappe auf (Abb.4).

Das Ausdünnen der fibrotischen Kappe, sowie Blutungen aus den Vasa Vasorum der Arterie sind insbesondere durch Metalloproteasen der Makrophagen verursacht (Ross, 1999). Die Stärke der fibrotischen Kappe kann durch makrophageninduzierte Entzündung abnehmen. Dadurch steigt das Risiko eines akuten ischämischen Ereignisses (Libby et al., 2002). Für den Patienten ist eine vulnerable Plaque dahingehend gefährlich, da sie keinen ausgeprägten Stenosegrad aufweist und sie so keine Frühsymptome mit sich bringt. Über 74 % aller vulnerablen Plaques weisen im Querschnitt eine Gefäßeinengung von weniger als 75 % auf (Kolodgie et al., 2004). Es gehören zwar nur 10-20 % aller atherosklerotischen Läsionen zu dieser Gruppe, diese sind aber in 80-90 % für akute klinische Symptome verantwortlich (Davies and Woolf, 1993).

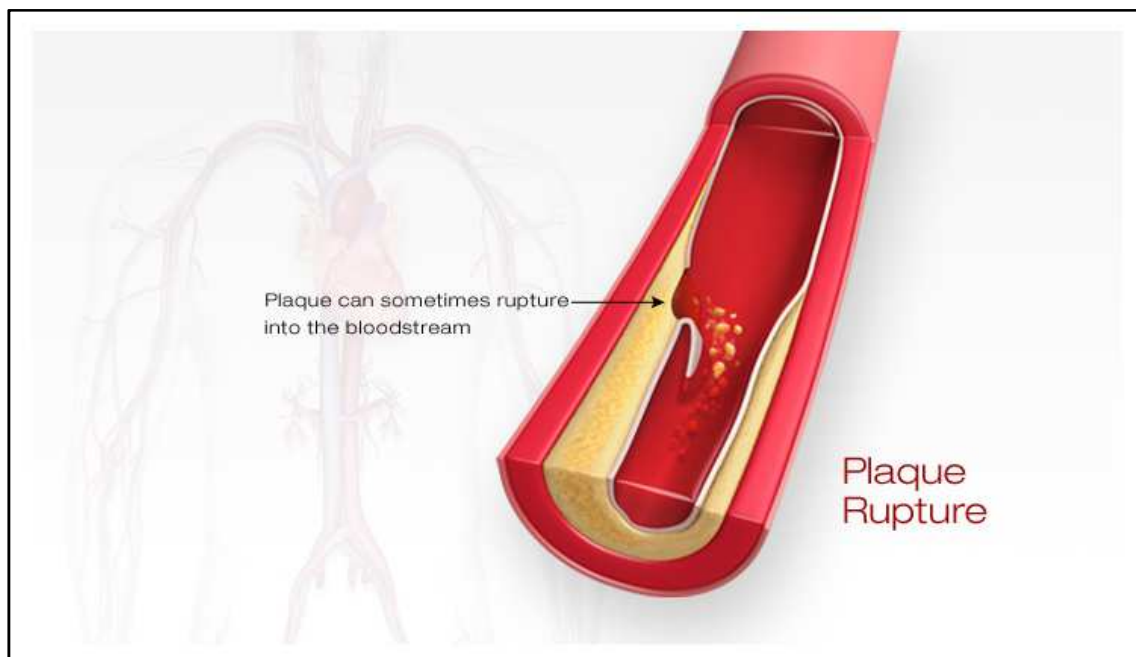


Abbildung 4: Darstellung der Plaqueruptur (American Heart Association, 2012).

Kalzifizierte Läsionen dagegen sind weniger rupturgefährdet als frühere Läsionen. Bei ihnen kommt es durch einen degenerativen Prozess im Atheromkern zu nekrotisierten kalzifizierten Arealen, was zu einer langsamen Stenosierung des Lumens führt (Libby et al., 2002) (Abb.5).

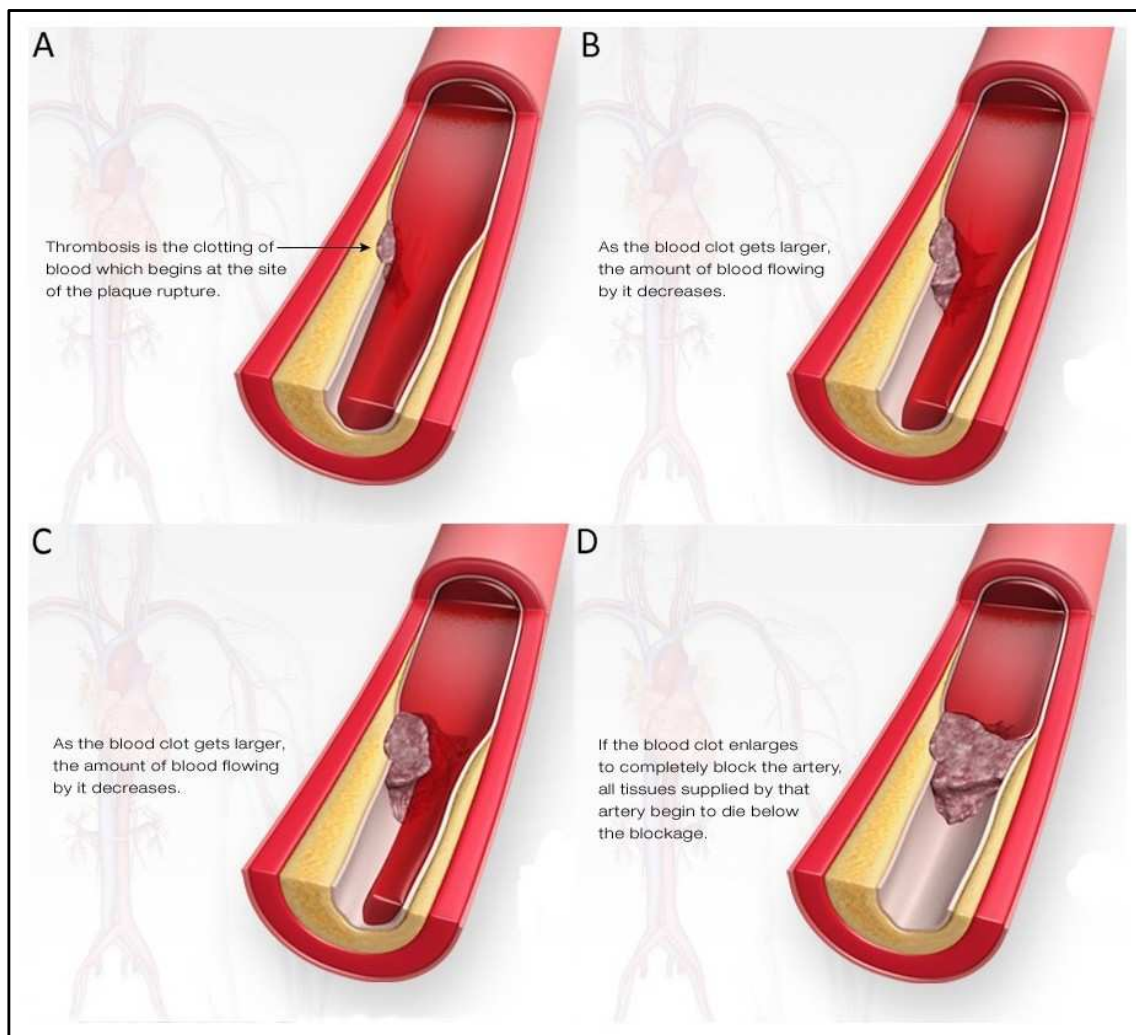


Abbildung 5: Plaqueentwicklung bis hin zum Gefäßverschluss (American Heart Association, 2012).

1.2.4 Therapie der Atherosklerose

Bei der Therapie der Atherosklerose geht es im Wesentlichen um die Vermeidung bzw. Reduktion von Risikofaktoren. Diese sind beispielsweise die Reduktion des Nikotinkonsums, die Reduktion von Übergewicht, die Ernährungsumstellung und der Ausbau der sportlichen Aktivität. Bei allen Therapieoptionen ist aber eine hohe Compliance seitens des Patienten erforderlich. Bei einigen Risikofaktoren besteht die Möglichkeit der medikamentösen Therapie wie etwa beim Diabetes mellitus, der Hyperlipidämie oder der arteriellen Hypertonie.

Ein weiterer Therapieansatz ist die Gabe von Thrombozytenaggregationshemmern zur Senkung der Rate kardiovaskulärer Ereignisse bei bestehender Atherosklerose.

Neben den präventiven Maßnahmen bieten perkutane transluminale Interventionsverfahren die Möglichkeit Stenosen durch Dilatation und/oder Stenteinlage zu therapieren. Gefäßchirurgisch und kardiochirurgisch kann die Durchblutung durch Anlage von Bypässen verbessert werden.

1.3 Vasa Vasorum

Vasa Vasorum sind Gefäße die sich in der Adventitia und Media der Gefäßwände befinden (Clarke, 1965a, Clarke, 1965b). Unter physiologischen Bedingungen werden die Zellen der Gefäßwand einerseits durch Diffusion, andererseits durch die Vasa Vasorum in der Adventitia mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt. Das venöse Blut fließt über venöse Vasa Vasorum ab (Ritman and Lerman, 2007). Gefäße die ein großes Lumen aufweisen oder solche mit einer Diffusionsstörung sind besonders auf die Versorgung durch Vasa Vasorum angewiesen (Heistad and Armstrong, 1986, Langheinrich et al., 2007a). In vielen Studien werden die Vasa Vasorum als ein Geflecht von kleinen Gefäßen in der arteriellen Gefäßwand beschrieben (Kwon et al., 1998, Mann, 1985, McGeachie et al., 1982, Schutte, 1966, Werber and Heistad, 1985).

Es werden drei verschiedene Arten von Vasa Vasorum unterschieden:

- Vasa Vasorum interna (VVI)
- Vasa Vasorum externa (VVE) und
- Venöse Vasa Vasorum (VVV)

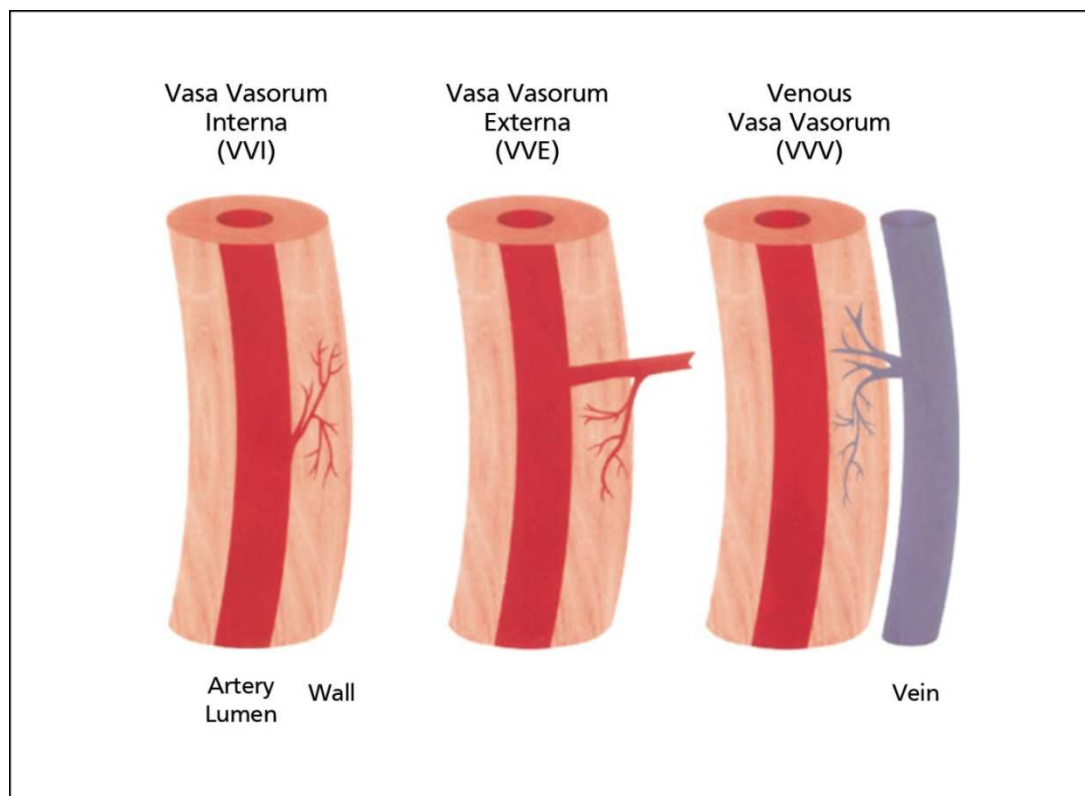


Abbildung 6: Klassifikation der Vasa Vasorum nach Gösxl et al. (Gösxl et al., 2003).

Die Vasa Vasorum interna entspringen in regelmäßigen Abständen aus dem Gefäßlumen an den Verzweigungsstellen der Hauptgefäße und verlaufen in Längsrichtung (Vasa Vasorum 1. Ordnung).

Die Vasa Vasorum externa entspringen aus primären Gefäßabgängen und verlaufen zirkulär in der Adventitia und verzweigen sich zu bogenförmigen Arteriolen bis hin zu Kapillaren (Vasa Vasorum 2. Ordnung) (Schoenenberger and Mueller, 1960).

Über die venösen Vasa Vasorum wird das Blut aus den arteriellen Gefäßwänden in die begleitenden Venen drainiert (Gossel et al., 2003).

Beim Menschen besitzen nur Gefäße mit mehr als 29 Zellschichten Wanddicke Vasa Vasorum (Geiringer, 1951).

In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass atherosklerotische Gefäßveränderungen mit einer gesteigerten Anzahl adventitieller Vasa Vasorum einhergehen (Fleiner et al., 2004, Barger et al., 1984, Kumamoto et al., 1995, Williams et al., 1988, Langheinrich et al., 2006). Allerdings konnte nicht eindeutig geklärt werden, ob es sich bei der Zunahme der Vasa Vasorum um die Ursache oder eine Folge der Veränderung handelt (Ritman and Lerman, 2007).

Da aber eine höhere Anzahl an Vasa Vasorum auch einen erhöhten Sauerstoff- und Nährstoffbedarf decken, werden sie als mitverantwortlich für das Fortschreiten atherosklerotischer Veränderungen gesehen, weil durch Plaqueauflagerungen auf die Gefäßwand die Sauerstoff- und Nährstoffaufnahme durch Diffusion gestört ist (Kwon et al., 1998, Barker et al., 1993, Booth et al., 1989). Die daraus folgende Hypoxie der Gefäßwand führt zu einer Bildung von Faktoren die die Neoangiogenese anregen. Es kommt zu einer vermehrten Bildung von Vasa Vasorum in der Adventitia (Kwon et al., 1998). Ebenso erleichtern die Vasa Vasorum die Einwanderung von immunologischen Zellen wie z.B. Monozyten und anderen inflammatorischen Faktoren im Verlauf der Atheroskleroseentwicklung (Moulton et al., 2003).

In Studien mit experimenteller Hypercholesterinämie konnte gezeigt werden, dass es bereits vor der Bildung von relevanten atherosklerotischen Plaqueauflagerungen zu einer signifikanten Volumenzunahme der Vasa Vasorum externa kommt. Kwon et al. folgerten daraus, dass es bereits vor der Bildung von nachweisbaren Gefäßläsionen zu einer hypoxiebedingten Neubildung von Vasa Vasorum kommt (Kwon et al., 1998).

Weitere Hypothesen zur Neovaskularisierung gehen davon aus, dass es bereits durch kompressive Kräfte innerhalb der Gefäßwand und durch eine Tonusveränderung im muskulären Anteil zur Neoangiogenese kommt. Ebenso kann es durch Zytokinansammlungen in den Arterienwänden z.B. bei Hypertonie, Hypercholesterinämie, Lipidansammlungen und ausgetretenen Blutprodukten zu Wachstumsreizen kommen. Es sind auch Reaktionen der Vasa Vasorum auf pharmakologische Stimuli denkbar. Auch andere Studien kamen zu dem Ergebnis, dass die Zunahme der Vasa Vasorum weniger von der Plaquegröße abhängig ist, als vielmehr von den Entzündungsvorgängen. Die Vasa Vasorum unterstützen den Transport von Entzündungszellen durch diesen Vorgang (Moulton et al., 2003).

Die unterstützende Rolle der Vasa Vasorum in Bezug auf das Plaquewachstum wurde auch dadurch hervorgehoben, da in Studien an Mäusen gezeigt werden konnte, dass nach Hemmung der Neoangiogenese mit Angiostatin das Plaquewachstum gemindert werden konnte. In dieser Studie konnte auch gezeigt werden, dass eine Hemmung der Angiogenese eventuell stabilisierende Wirkung auf die Plaque hat (Moulton et al., 2003).

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

Die vorliegende Studie wurde von der Ethikkommission des Fachbereiches Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität am 4.11.2008 genehmigt (AZ 119/08). Patienten, bei denen aus unterschiedlichen Gründen (pAVK, Tumoren) eine Amputation der unteren Extremitäten anstand, wurden mittels eines zu unterschreibenden Aufklärungsbogens über die Ziele der Studie informiert und um die Freigabe des Amputates gebeten. Unmittelbar nach Amputation der Unterschenkel ($n = 7$), wurde das Ostium einer der originären Arterien präpariert, mit einem Ballonkatheter intubiert und mittels Computertomographie untersucht. Nach einem nativen Scan wurde maschinell ein jodhaltiges, wasserlösliches Kontrastmittel (Ultravist 370[®], Bayer HealthCare AG, Deutschland) injiziert. Mit Beginn der Perfusion wurden vier Scans im Dual-Source-CT gestartet die unmittelbar aufeinander folgten so dass Bilder im Abstand von 5, 10, 15, und 20 Sekunden entstanden. Somit konnten vier Phasen der Perfusion erfasst werden.

Schließlich erfolgte die Perfusion mit dem aushärtenden Kontrastmittel Microfil[®] und ein weiterer Scan. Anschließend wurden einige cm lange Stücke der Unterschenkelgefäße kurz unterhalb des Katheters heraus präpariert und in Formalinlösung fixiert. Die Segmentpräparate wurden im Mikro-CT gescannt und anschließend für die histologische Korrelationsanalytik aufbereitet.

2.2 Dual-Source-Computertomographie

Mit der CT können die Schwächungswerte der durchstrahlten Schichten ortsfest und überlagerungsfrei dargestellt werden. Die Methodik der CT (und damit auch der Mikro-CT) beruht auf folgenden Komponenten:

- Akquisition (Messung),
- Rekonstruktion,
- Visualisierung und Quantifizierung.

Zur Erzeugung von überlagerungsfreien Bildern werden Projektionsbilder aus verschiedenen Winkeln betrachtet. Es wird eine bestimmte Anzahl von Körperschichten von einem Röntgenstrahler und dem gegenüberliegenden Detektorsystem abgetastet. Hierbei durchdringt ein eng eingeblendeter Röntgenstrahl die zuvor definierte Körperschicht. Aus den bekannten Wechselwirkungsprozessen (z.B. Photoeffekt, Compton-Streuung) der Röntgenstrahlung mit den verschiedenen Gewebearten im Körper, resultiert eine unterschiedliche Schwächung, wodurch die hinter dem Patienten austretende und im Detektor gemessene Strahlung die räumliche Verteilung und Dichte des durchstrahlten Gewebes repräsentiert.

Die im Detektorsystem gemessene Schwächung der Röntgenstrahlung wird anschließend in ein analoges Graustufenbild umgewandelt. Unter der Bildrekonstruktion versteht man also die Umformungen der Schwächungswerte in ein digitales Signal. Zur Darstellung der in CT-Bildern auftretenden digitalen Werte wird zumeist eine Bildauflösung von 1024×1024 Bildpunkten verwendet. Hierbei korrespondiert jeder Bildpunkt des CT-Bildes mit einem Volumenelement (= Voxel) der zu untersuchenden Körperschicht. Das heißt, ein Voxel ist definiert als $\text{Pixel} \times \text{Schichtdicke (d)}$. Für die Bildberechnung wird also die Objektscheibe in eine Matrix von Bildpunkten mit der Tiefe d zerlegt, wobei die projektionsspezifische Gesamtschwächung des Röntgenstrahls die Summe aus den einzelnen Voxelabsorptionen darstellt. Der Rechner ordnet in einer zweidimensionalen Verteilung jedem ortsständigen Voxel seinen individuellen Schwächungswert zu. Die gefilterten und rückprojizierten Schwächungswerte werden nun in eine Relativskala (Graustufenskala) übertragen und dargestellt.

Die Darstellung der kompletten Unterschenkelamputate, wie oben beschrieben, erfolgte mit dem in der klinischen Humandiagnostik verwendeten 64-Zeilen-Dual-Source-Computertomographen der Firma Siemens (Somatom Definition) in Gießen mit einer Auflösungsgröße von $600 \mu\text{m}$ und mit einer Energie von 80 kV und 120 kV.

2.3 Mikro-Computer-Tomographie

2.3.1 Technische Grundlagen

Ein Mikro-Computertomograph ist in seinem Aufbau grundsätzlich mit den klinischen Computertomographen vergleichbar. Ein wesentlicher Unterschied besteht darin, dass Proben mit einer Ortsauflösung von wenigen Mikrometern abgebildet werden können und man eine Detailerkennbarkeit im mikroskopischen Bereich erzielt. Die hohe Auflösung geht auf Kosten der Probengröße, welche im Zentimeter- bis Millimeterbereich liegt. Mit Hilfe der Mikro-CT können die Proben nichtdestruktiv untersucht werden: Die Probe bleibt in ihrer Gesamtheit intakt.

Die wichtigsten Komponenten eines Mikrotomographen sind Strahlungsquelle (Mikrofokus), Probenmanipulator, hochauflösender Flächendetektor, Charge-coupled Device Array, (CCD-Array) und die Rechneinheit zur Systemkontrolle und Datenverarbeitung. Im Gegensatz zur konventionellen Computertomographie rotiert im Mikrotomographen nur das Objekt. Strahlungsquelle und Detektor bleiben hingegen stationär. Das Untersuchungsobjekt muss daher rotationsstabil sein.

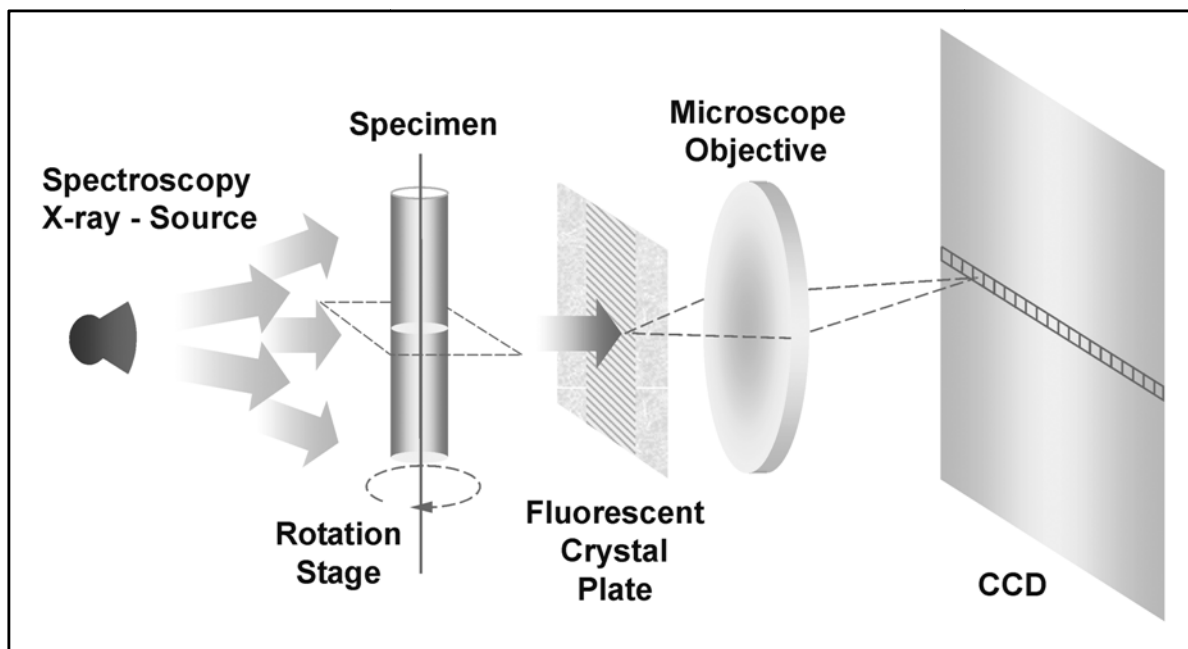


Abbildung 7: Darstellung des Aufbaus eines Mikro-CT (mit freundlicher Genehmigung von Eric L. Ritman, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA).

Der bedeutendste Unterschied zwischen einem ex-vivo Mikro-CT und einem klinischen Computertomographen liegt in der resultierenden Ortsauflösung der Bilddaten. Während mit einem medizinischen Gerät der neuen Generation eine isotrope Ortsauflösung von bis zu 0,6 mm erzielt werden kann, liegt dieser Wert beim Mikro-CT je nach Objektgröße zwischen 5 und 50 μm . Diese Erhöhung der Ortsauflösung setzt jedoch ein Design voraus, das sich wesentlich von dem klinischer CT-Scanner unterscheidet. Beispielsweise können konventionelle Röntgenröhren für Mikro-CT-Systeme aufgrund ihrer zu hohen Fokusgröße nicht benutzt werden. Stattdessen werden entweder Synchrotronstrahlungsquellen oder optimierte Fein- und Mikrofokusröntgenröhren mit Transmissions- oder Reflektionsanoden eingesetzt, wodurch kleinere Fokusgrößen erreicht werden können. Die Wahl der Strahlenquelle legt die Geometrie des Mikro-CT-Scanners fest: Parallelstrahlgeometrie für Synchrotronstrahlung oder Fächer- bzw. Kegelstrahlgeometrie für Fein- und Mikrofokusröntgenröhren. Im Falle der Parallelstrahlgeometrie hängt die maximal erreichbare Auflösung im Wesentlichen von dem verwendeten Detektor ab. In der Fächer- und Kegelstrahlgeometrie stellt die Fokusgröße der Röntgenröhre den ausschlaggebenden Parameter dar. Neben der Detektorauflösung bzw. der Quellgröße (Fokus) ist auch die zur Verfügung stehende Anzahl der Röntgenquanten von erheblicher Bedeutung.

Die Synchrotronstrahlung bietet ein kontinuierliches Spektrum, aus dem bei mikrocomputertomographischen Untersuchungen ein monochromatischer Strahl herausgefiltert wird. Die Intensität (Anzahl der zur Verfügung stehenden Röntgenquanten) dieses monochromatischen Strahles ist um den Faktor 10^6 höher als diejenige konventioneller Röntgenröhren. Daher ist die Synchrotronstrahlung die Quelle der Wahl, wenn entweder extrem hohe Auflösungswerte ($< 5 \mu\text{m}$) angestrebt werden oder die Untersuchungszeit begrenzt werden soll. Die Nachteile sind hierbei allerdings die Ortsgebundenheit, die begrenzte Verfügbarkeit der Elektronenspeicherringe mit denen die Synchrotronstrahlung erzeugt wird und der vergleichsweise relativ hohe experimentelle und finanzielle Aufwand.

Der uns zur Verfügung stehende Mikro-CT-Scanner der Firma Skyscan (SkyScan-1072 High-resolution desk-top mikro-CT system, Aartselaar, Belgien) setzt sich aus dem

Scanner mit einem umgebenden röntgendichten Gehäuse sowie zwei PC-Einheiten zur Gerätesteuerung und Bildrekonstruktion zusammen. In Abbildung 7 ist der Aufbau eines Mikro-CT schematisch dargestellt.

Beim Durchstrahlen des Objekts kommt es durch Wechselwirkungen (besonders durch den Photoeffekt) zu einer Abnahme der Photonenflussdichte, die mit dem Detektorsystem gemessen wird. Das Schwächungsausmaß steht im Verhältnis zur Art und räumlichen Verteilung des durchstrahlten Gewebes. Die erhaltenen Daten eines Intensitätsprofils liefern letztlich ein digitales Transmissionsradiogramm des Objekts. Durch Rotieren der Probe werden Projektionsradiographien der gesamten Probe erzeugt. Die Anzahl der Radiographien ergibt sich aus der Größe der Rotationsschritte. Im Scanner ist ein Probenschlitten zwischen einer Mikrofokusröntgenröhre und einem Charge-Coupled-Device-Detektor (CCD-Detektor) auf einer drehbaren Achse befestigt. Dieser führt Rotationsbewegungen in frei definierten Winkelschritten durch und kann entlang der Längsachse zwischen Röntgenröhre und CCD-Detektor bewegt werden. Dadurch kann der Fokus-Objektabstand je nach gewünschter Vergrößerung verschoben werden, so dass Proben bis zu einem maximalen Durchmesser von ca. 1,5 cm gescannt werden können. Der Scanner arbeitet mit Kegelstrahlgeometrie. Eine Mikrofokusröntgenröhre dient dabei als Strahlenquelle. Als Detektor wird eine ca. 25 μm dicke Szintillatorschicht, die auf dem Kamerafenster einer gekühlten CCD-Kamera mit 1024×1024 Pixeln aufliegt und einen maximalen Bildausschnitt, field of view (FOV), von 25 mm zulässt, verwendet. Die kontinuierliche Überwachung der Probe wird von einer optischen Kamera übernommen. Spannungsquelle und Steuerelektronik befinden sich im Scanner. Für die Bilderzeugung durch die Mikrofokusröntgenröhre werden Röntgenquanten erzeugt, die in dieser Studie kegelförmig fokussiert und beim Durchtritt durch das Objekt abgeschwächt wurden. Der CCD-Detektor misst die ankommende Röntgenstrahlung, die in ein digitales Signal umgewandelt wird.

Die Auflösung im Mikro-CT hängt von mehreren Faktoren ab. Dabei bestimmt die Fokusgröße der Röntgenröhre die maximal erreichbare Auflösung. Sie sollte daher so klein wie möglich gewählt werden. Das Problem liegt dann jedoch darin, dass die Leistung der Röhre umso geringer wird, je kleiner die Fokusgröße ist. Dadurch

entstehen wesentlich längere Messzeiten als bei den klinisch eingesetzten Computertomographen, die sich im Sekundenbereich befinden. Durch den verschieblichen Probenschlitten zwischen Strahlenquelle und CCD-Detektor lässt sich der Vergrößerungsfaktor in einem weiteren Bereich anpassen. Nachteile ergeben sich jedoch auch hier durch die Fokusgröße von 8 μm . Die theoretische Möglichkeit ein sehr kleines Objekt nah an die Strahlenquelle heranzuführen, um so einen möglichst großen Vergrößerungsfaktor zu erzielen, ist technisch durch die Unschärfe des Projektionsbildes auf dem CCD-Detektor limitiert. Eine weitere Einschränkung ist durch die maximale Probengröße gegeben. Das Projektionsbild des Objektes auf dem CCD-Detektor darf nicht breiter sein als der Detektor selbst, da es sonst zu Artefakten bei der Bildberechnung kommen kann. Die maximale geometrische Auflösung des Projektionsbildes und der daraus errechneten Querschnittsbilder beträgt somit $1/1000$ des Objektdurchmessers. Die tatsächliche Auflösung nimmt jedoch aufgrund der Fokusgröße von 8 μm in dem Maße ab, in dem der Vergrößerungsfaktor durch Annäherung der Probe an die Röntgenröhre gesteigert wird.

Die Proben wurden im Mikro-CT der Universität Gießen untersucht. Alle Proben wurden unter identischen Bedingungen gescannt. Die entstandenen Bilder wurden mit dem Programm ANALYZE[®] 8.0 (Biomedical Imaging Resource, Mayo Clinic Rochester) bearbeitet.

2.3.2 Bildakquisition

Die formalinfixierten Gefäßsegmente wurden in Parafilm[®]-Folie eingehüllt und auf der Probenhalterung mit Hilfe von Formmasse zentriert fixiert. Die Folie verhindert das Austrocknen der Probe. Die Formmasse stellte sich als unkomplizierteste und variabelste Fixationsmöglichkeit heraus. Der Probenhalter wurde anschließend in den Scanner eingebracht und seine optimale Positionierung durch Anfertigung eines Übersichtsbildes (Scout view) überprüft. Zeigte sich hierbei eine falsche oder suboptimale Einstellung, d.h. war die Probe evtl. dezentriert, zu hoch oder zu niedrig abgebildet, konnte dies durch Manipulation der Probe und Ansteuerung der Halterung korrigiert werden. Alle Proben wurden mit den gleichen Parametern gescannt. Die Röhrenspannung betrug 80 kV, der Röhrenstrom 100 μA . Eine Matrix von 1024×1024

Pixeln bei einem Rotationswinkelschritt von $0,45^\circ$ und einer Drehung von 180° diente der Bildaquisition. Die Expositionszeit wurde nach der Auswertung einer Absorptionskurve im Topogramm ermittelt, wodurch Über- und Unterbelichtungen vermieden werden.

Zwischen jedem Einzelbild musste eine Abspeicherung der aufgenommenen Rohdaten in sogenannte TIF-Dateien erfolgen. Vor dem Entfernen der Probe aus dem Gerät ließ sich die ausreichende Bildqualität mit der Anfertigung eines einzelnen Rekonstruktionsbildes überprüfen.

2.3.3 Bildberechnung

Durch den primären Scanvorgang existierten zunächst nur Rohdaten, die im TIF-Format mit einer Größe von 2049 kB (Matrix 1024×1024) vorlagen. Aus diesen Daten wurden im Anschluss axiale Schnittbilder rekonstruiert. Nach der Anfertigung einer einzelnen Rekonstruktion und der Optimierung der Grauwertdarstellung, d.h. der Festlegung des minimalen und maximalen Grauwertes, erfolgte die serielle Rekonstruktion der axialen Schnittbilder der gesamten Probe.

Die erzeugten axialen Schnittbilder im Bitmap-Format besitzen eine Größe von ca. 1026 kB und sind dadurch einer schnellen Darstellung und morphometrischen Auswertung zugänglich.

2.3.4 Bildanalyse

Die Auswertung der im Mikro-CT gescannten Proben erfolgte mit dem Programm ANALYZE[®] 8.0. Dieses Programm ermöglicht es, dreidimensionale Volumenbilder zu errechnen, darzustellen und zu verarbeiten. Um eine dreidimensionale Darstellung der Bilder zu ermöglichen, mussten die axialen Bitmap-Datensätze in Volumendatensätze umgewandelt werden.

Für die insgesamt 240 ausgewählten Gefäßquerschnitte wurden außerdem histologische Querschnittsbilder angefertigt und mit den entsprechenden Schnitten der Mikro-CT korreliert, um hier pro Querschnitt, für jeden Plaque-Typ getrennt, die Anzahl und die Gesamtfläche der Vasa Vasorum sowie den Gesamtdurchmesser und den luminalen Durchmesser der Gefäße zu bestimmen. Dabei wurden unterschiedliche

atherosklerotische Plaquetypen (frühe Läsionen, fibrotische/hämorrhagische und kalzifizierte Plaques) untersucht. Die Messung und Berechnung der Daten erfolgte pro Transversalschnitt.

2.3.4.1 Auszählung und Planimetrierung der adventitiellen Vasa Vasorum

Als adventitielle Vasa Vasorum wurden die arteriellen und venösen Gefäße gezählt, die einen unmittelbaren Kontakt zur äußeren Begrenzung der Media aufweisen. Auch Gefäße, die wenige mm weiter peripher gelegen waren, die aber in ihrem Verlauf einen unmittelbaren Kontakt zur Media/Adventitia-Grenze herstellen, wurden bei der Auszählung und Planimetrierung berücksichtigt. Vasa Vasorum welche im Plaquegewebe verlaufen, wurden nicht erfasst. Auch Gefäßabgänge aus dem Gefäßlumen, die als eigenständig verlaufendes Gefäß identifiziert werden konnten und offensichtlich zur Versorgung des weiter peripher liegenden Gewebes dienen, wurden nicht gezählt oder planimetriert.

In den Gefäßabschnitten ($n = 5$) mit fibrotischen/hämorrhagischen, kalzifizierten Plaques und frühen Läsionen wird in jedem zehnten transversalen Schnitt die Anzahl der Vasa Vasorum durch Auszählung ermittelt. Zur Bestimmung der Gesamtfläche der Vasa Vasorum pro Transversalschnitt wird jedes als adventitielles Vasa Vasorum identifizierte Gefäß planimetriert. Die pro Schnitt gemessenen Einzelwerte werden zur Gesamtfläche pro Transversalschnitt summiert und in der Einheit mm^2 angegeben. Insgesamt wird in 99 Schnitten mit frühen Läsionen, 97 Schnitten mit kalzifizierten und 44 Schnitten mit fibrotischen/hämorrhagischen Plaques die Anzahl der Vasa Vasorum bestimmt und deren Fläche planimetriert.

2.3.4.2 Messung des Gefäßdurchmessers

Die sich durch unterschiedliche Grauwerte vom umliegenden Gewebe abhebende Gefäßwand kennzeichnet die Begrenzung des Gefäßes. Dieser Grenzbereich stellt den Ausgangspunkt für die Messung des Gesamtdurchmessers in mm dar.

In 240 Transversalschnitten werden je zwei Werte für den Gesamtdurchmesser gemessen, welche senkrecht zueinander stehen. Aus den beiden Werten wird der

Mittelwert berechnet, sodass zur weiteren Auswertung und Analyse ein gemittelter Wert pro Transversalschnitt für den Gesamtdurchmesser vorliegt.

2.3.4.3 Messung des luminalen Durchmessers

Das Gefäßlumen, welches mit röntgendichtem Kontrastmittel gefüllt ist, hebt sich durch die erhöhte Dichte vom umliegenden Gewebe ab, sodass die Messung des luminalen Durchmessers in mm möglich wird. Die Messung des luminalen Durchmessers erfolgt äquivalent zur Messung des Gesamtdurchmessers. Insgesamt werden 240 Schnitte vermessen.

2.3.4.4 Planimetrierung der luminalen Oberfläche

Die sich von der umliegenden Gefäßwand durch Kontrastmittelperfusion abhebende lumenale Oberfläche wird in 240 Transversalschnitten planimetriert. Die Messwerte sind in der Einheit mm^2 angegeben.

2.3.4.5 Berechnung der Plaqueoberfläche

Zur Berechnung der Plaqueoberfläche werden die Gesamtoberfläche des Gefäßes sowie die lumenale Oberfläche benötigt. Die Gesamtoberfläche des Gefäßes wird mittels der Kreisflächenformel $A = \pi (d/2)^2$ berechnet.

Als Durchmesser d liegen die gemittelten Werte des Gefäßdurchmessers vor. Die Werte zur lumenalen Oberfläche werden, wie oben beschrieben, ermittelt. Zur Berechnung der Plaqueoberfläche wird die Differenz aus der Gesamtoberfläche und der lumenalen Oberfläche gebildet. Die Werte werden in der Einheit mm^2 angegeben.

2.3.4.6 Berechnung des Gefäßwand/Lumen Quotienten

Zur Berechnung des Gefäßwand/Lumen Quotienten pro Transversalschnitt werden als Ausgangswerte die durchschnittliche Dicke der Gefäßwand, sowie der lumenale Durchmesser benötigt.

Um die durchschnittliche Dicke der Gefäßwand zu ermitteln wird zunächst die Differenz des Mittelwertes des Gesamtgefäßdurchmessers und des Mittelwertes des luminalen Durchmessers gebildet. Der durch diese Berechnung erhaltene Wert beschreibt die Summe der Gefäßwanddicke beidseits des Gefäßlumens. Um den

benötigten Wert, die auf eine Seite begrenzte durchschnittliche Gefäßwanddicke, zu erhalten, muss das Ergebnis halbiert werden.

Der außerdem zur Berechnung des Gefäßwand/Lumen Quotienten benötigte Wert des luminalen Durchmessers liegt in Form des Mittelwertes aus der Messung bereits vor. Durch Division der Werte der durchschnittlichen Dicke der Gefäßwand und der Werte des luminalen Durchmessers, erhält man den Gefäßwand/Lumen Quotienten.

2.4 Histologische Untersuchungsmethoden

Die Arteriensegmente werden, nachdem sie mit Hilfe unterschiedlicher radiographischer Verfahren untersucht wurden, am Institut für Pathologie der Universität Gießen zur histologischen Vergleichsuntersuchung weiter bearbeitet. Die Schnittpräparate wurden in Paraffinwachs eingebettet, auf Objektträger gezogen und dort angefärbt.

Zur Darstellung von Zell- und Gefäßstrukturen werden Hämatoxylin-Eosin-Färbungen verwendet (HE-Färbung). Bei dieser Färbung färben sich Zellkerne, Knorpel und Kalk blau, Zellplasma und Muskelzellen rot und Erythrozyten orange an. Nach dem Färbevorgang werden die Gewebe auf den Objektträgern luftdicht eingedeckt und verschlossen. Die Präparate wurden am Institut für Pathologie am Universitätsklinikum in Gießen über eine angeschlossene JVC-Digitalkamera (Axioskop, Zeiss; Kamera: JVC, KY-F75U) digitalisiert. Die lichtmikroskopische Auswertung der histologischen Präparate erfolgte indem sie histomorphologisch analysiert und auf Korrelation zwischen radiographischen Ergebnissen und Histopathologie überprüft wurden.

2.5 Bildpaar-Erstellung (Histologie/Mikro-CT)

Um die realitätsgetreue Abbildung der Gefäßabschnitte in der Mikro-CT zu überprüfen wurde ein Bildvergleich mit korrespondierenden histologischen Schnitten durchgeführt (Abb.9). Es mussten also vergleichbare Schnitte aus beiden Bildgebungsverfahren gefunden werden. Als Referenzbild diente der fotografierte histologische Schnitt. Das Auffinden des korrespondierenden Bildes aus dem mikrotomographischen Datensatz erfolgte mit Hilfe der Software ANALYZE[®] 8.0. Dazu wurden alle

mikrotomographischen Einzelschnitte der Probe in einen Volumendatensatz überführt, um ein kontinuierliches Durchblättern des Datensatzes zu ermöglichen. Trotz größter Sorgfalt bei der Präparation stimmen die Schnittebenen beider Verfahren nicht komplett überein. Schon geringe Winkelabweichungen der histologischen Schnittebene bezogen auf das mikrotomographische Bild führen im Mikrometerbereich zu unterschiedlichen, nicht exakt passenden, Schnitten.

Die Auswertung der Dual-Source-CT-Daten erfolgte in der Universitätsklinik Gießen ebenso wie die Auswertung der Mikro-CT Daten. Die histologische Auswertung fand im Institut für Pathologie der Universität Gießen statt. Die Korrelationsanalytik wurde anhand digitalisierter Bilder durchgeführt.

2.6 Statistische Analyse

Statistische Hypothesen dienen der Überprüfung wissenschaftlicher Vermutungen. Zu Anfang werden die Null- und die Alternativhypothese festgelegt. Bei der Durchführung eines Gruppenvergleichs wird die Ablehnung dieser Hypothesen durch den Anwender überprüft. Will man eine Hypothese mit einem geringen Fehler ablehnen, so sollte die Wahrscheinlichkeit, mit der man die Hypothese fälschlicherweise ablehnt, niedrig sein. Dazu wird eine maximale Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanzniveau α) bestimmt, die den Fehler die Nullhypothese abzulehnen obwohl sie richtig ist, begrenzt. Ist p kleiner als das festgelegte Signifikanzniveau, so liegt statistische Signifikanz vor. Die Nullhypothese kann verworfen werden. Die hier aufgeführte statistische Ausarbeitung erfolgte mit dem JMP-Statistikprogramm (JMP, A Business, Unit of SAS; SAS Campus Drive, Cary, NC 27513; Version JMP Release 6). Mittelwerte und Standardabweichung wurden für jeden Parameter in jeder Gruppe berechnet. Die Daten wurden mit dem t-Test und der einfachen Varianzanalyse für unabhängige Stichproben ausgewertet und bei einem $p < 0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

Im Dual-Source-CT erfolgte, wie oben beschrieben, zu Beginn die Perfusion der Amputate mit jodhaltigem Kontrastmittel um die Restperfusion darzustellen. Dadurch konnte eine geeignete Stelle zur Gefäßentnahme ermittelt werden.

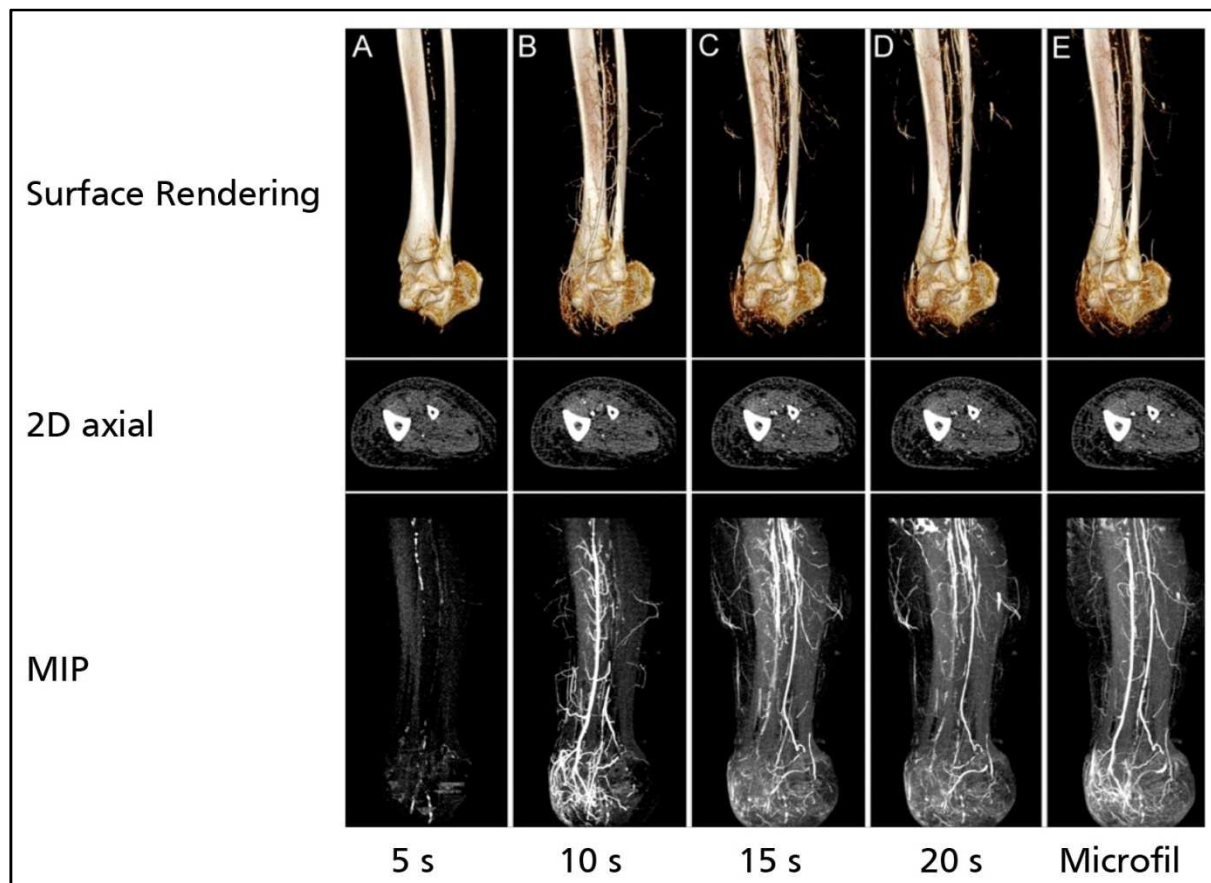


Abbildung 8: 64-Zeilen Dual-Source-Computertomographie humaner Unterschenkel unmittelbar nach Amputation. Volume Rendering Bilder, axiale 2D Bilder und Maximum Intensity Projection (MIP) Bilder. 5, 10, 15 und 20 Sekunden nach Katheterinjektion jodhaltigen Kontrastmittels (A-D) sowie nach Injektion von Microfil® (E).

3.1 Daten aus dem Mikro-CT

Den Schwerpunkt dieser Arbeit bildeten die mikrocomputertomographischen Untersuchungen der mit Microfil® perfundierten arteriellen Gefäßabschnitte. Nach der Analyse im Mikro-CT erfolgte die Quantifizierung des Gefäßanteiles mittels etablierter histologischer Methoden. Es wurden insgesamt fünf Gefäßsegmente frisch amputierter humaner Unterschenkel (n = 7) nach Perfusion mit Microfil® in-situ entnommen und

mittels Mikro-CT untersucht. Insgesamt wurden 240 Gefäßabschnitte in der Mikro-CT und Histologie planimetrisch erfasst. Alle Gefäßsegmente wurden histopathologisch aufgearbeitet und mit dem Mikro-CT korreliert. Anhand der Bildpaare erfolgte die Klassifizierung der atherosklerotischen Läsionen. Danach wurde für jeden Plaquetyp getrennt die Anzahl und die Gesamtfläche der Vasa Vasorum pro Querschnitt quantifiziert. Bei den transversalen Schnitten der Mikro-CT-Bilder handelt es sich um Aufnahmen mit einer Voxelgröße von 5 μm , bei den histologischen Bildern um eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Die Aufnahmen aus dem Mikro-CT konnten durch die Histologie bestätigt werden.

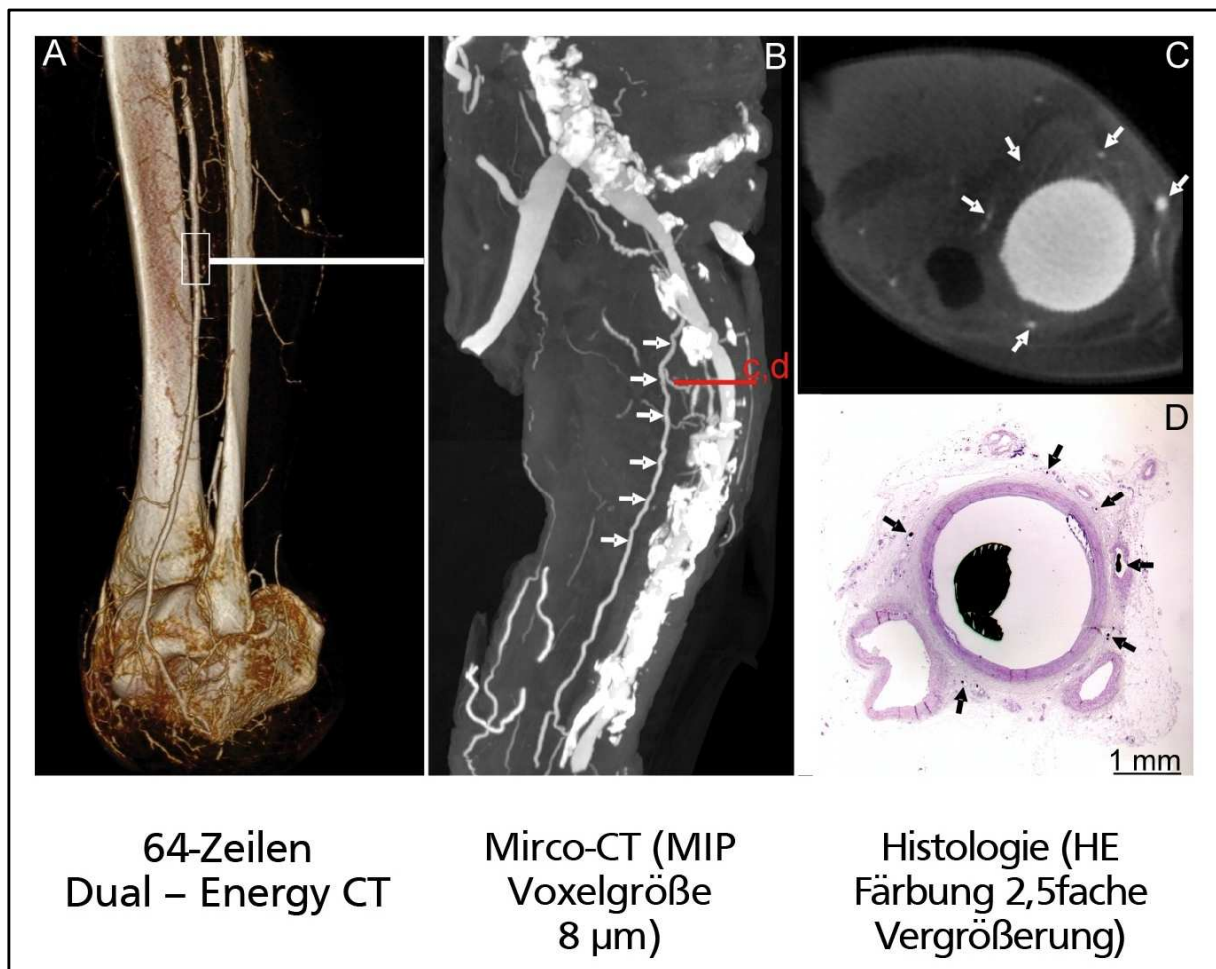


Abbildung 9: Vergleich 64-Zeilen Dual-Source-CT (A), Mikro-CT (MIP, 8 μm Voxelgröße) (B), Mikro-CT (2D axial) (C) und Histologie (HE-Färbung, 2,5fache Vergrößerung) (D).

3.1.1 Absorptionswerte

Bei einer Auflösung von 5 μm Voxelgröße zeigen die Gefäß- und Plaquekomponenten spezifische Absorptionspeaks auf, die eine Differenzierung unterschiedlicher Plaquestrukturen innerhalb einer atherosklerotischen Läsion erlauben. Es lassen sich sowohl verkalkte als auch nicht verkalkte Plaqueareale voneinander, sowie gegenüber anderen Gefäßwandanteilen wie kontrastmittelgefülltem Gefäßlumen, Adventitia und Umgebungsgewebe abgrenzen.

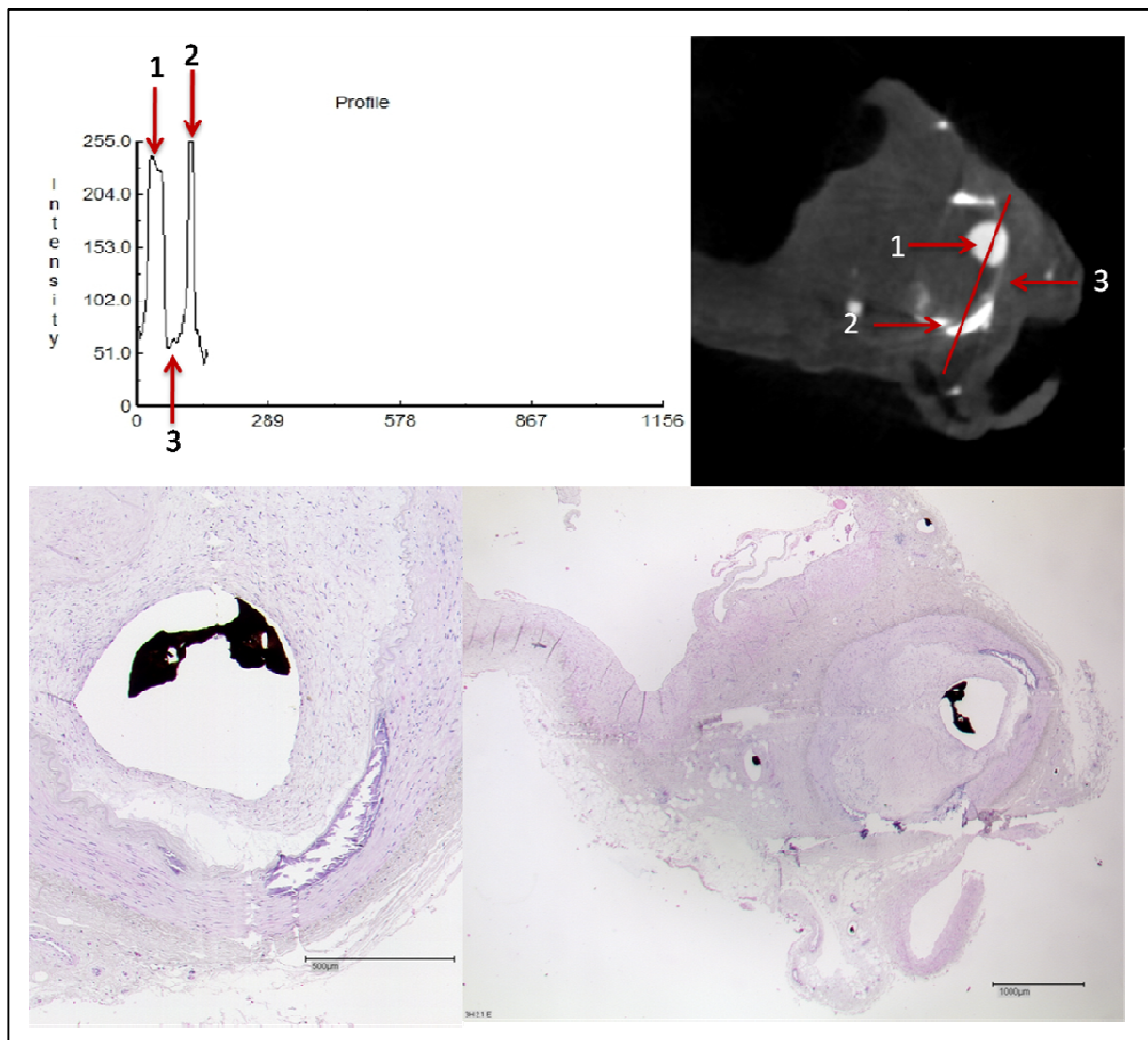


Abbildung 10: Darstellung der Absorptionswerte von verschiedenen Plaquestrukturen eines verkalkten, stark fibrotischen Plaques anhand Mikro-CT in 5 μm Voxelgröße mit histologischer Korrelation. In der Abbildung sind die entsprechenden Absorptionswerte in grafischer Form dargestellt: x-Achse = Lokalisation der Messwerte auf dem untersuchten Areal, y-Achse = Intensität der Absorptionen (1000/cm). Die rote Linie markiert den gemessenen Bereich. Gefäßlumen mit Mikrofil® perfundiert (1) Kalzifizierter Anteil des Plaques (2) Plaque (3).

3.1.2 Statistische Analyse der Mikro-CT Daten

3.1.2.1 Transmurales Verteilungsmuster der Vasa Vasorum

Durch die statistische Auswertung konnte gezeigt werden, dass sich in fibrotischen/hämorrhagischen Plaques eine signifikant höhere Anzahl von Vasa Vasorum im Vergleich zu frühen oder kalzifizierten Plaques nachweisen lässt ($p < 0,001$). Dabei wurden in den Gefäßen mit frühen Läsionen $3,0606 \pm 1,3539$ Vasa Vasorum gezählt, in Gefäßen mit kalzifizierten Plaques $3,1856 \pm 1,6287$ und in Gefäßen mit fibrotischen/hämorrhagischen Plaques $5,6364 \pm 1,2956$. Die Anzahl der Vasa Vasorum in frühen Plaques unterschied sich somit nicht signifikant von der Anzahl der Vasa Vasorum in kalzifizierten Plaques.

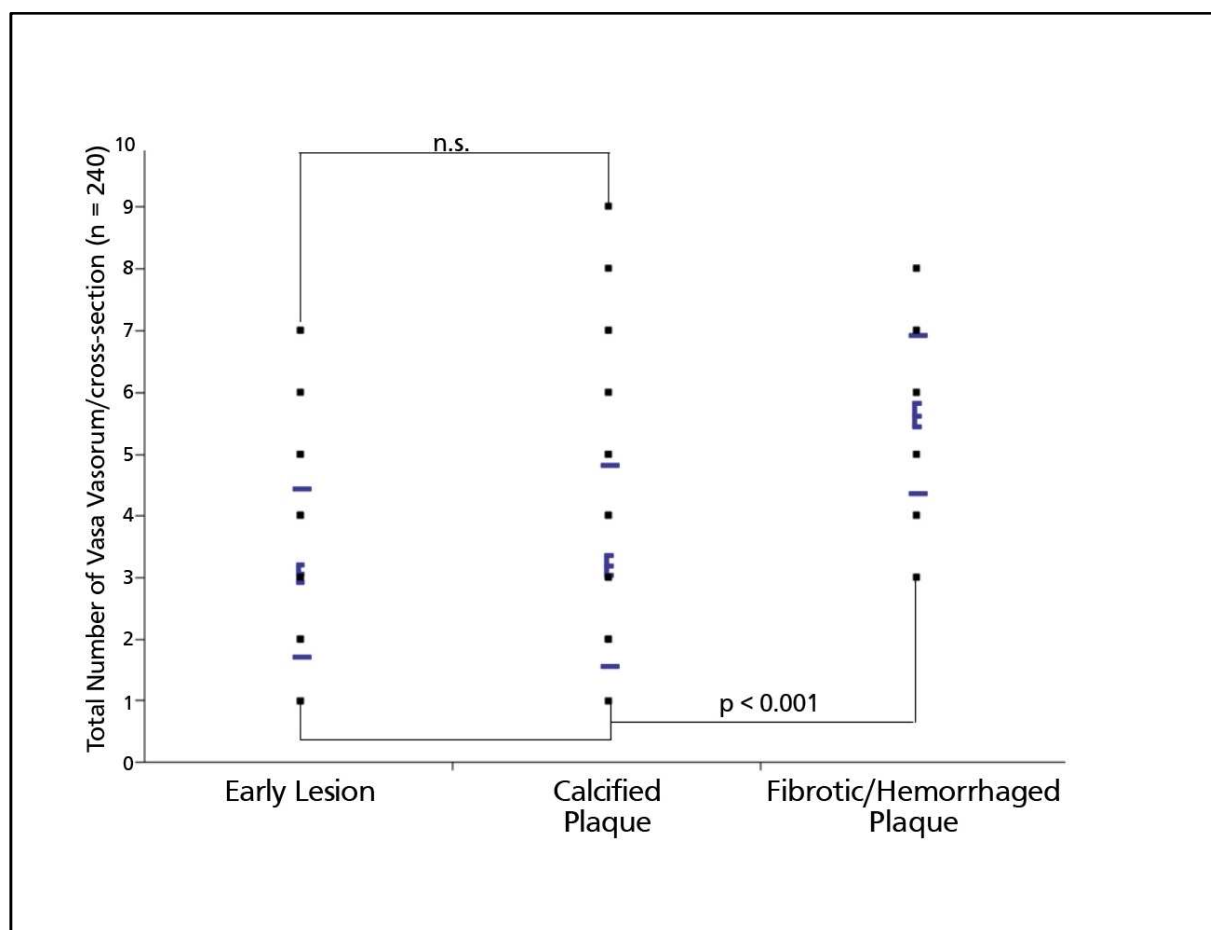


Abbildung 11: Grafische Darstellung der Anzahl der Vasa Vasorum pro Schnittbild in Bezug auf die unterschiedlichen Plaquetypen.

3.1.2.2 Anzahl der Vasa Vasorum im Verhältnis zur Plaquefläche

Die Anzahl der Vasa Vasorum zeigte sich unabhängig von der Gesamtfläche der Plaque ($r^2 = 0,01$).

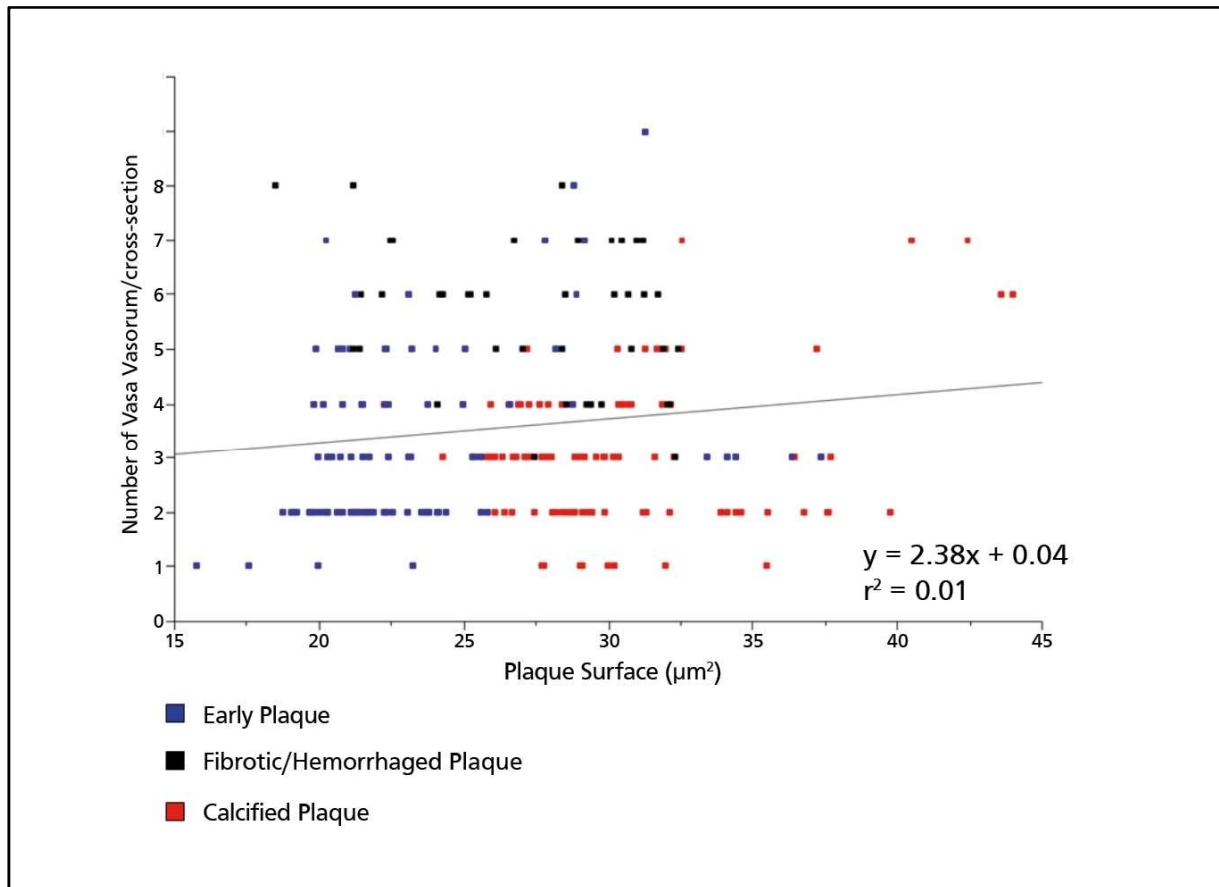


Abbildung 12: Die Abbildung zeigt grafisch die Anzahl der Vasa Vasorum im Verhältnis zur Plaquefläche. Die Anzahl der Vasa Vasorum ist somit unabhängig von der Plaquefläche.

3.1.2.3 Vasa Vasorum im Verhältnis zum Gefäßdurchmesser

Auch die Gesamtfläche der Vasa Vasorum ist unabhängig vom Gefäßdurchmesser ($r^2 = 0,18$).

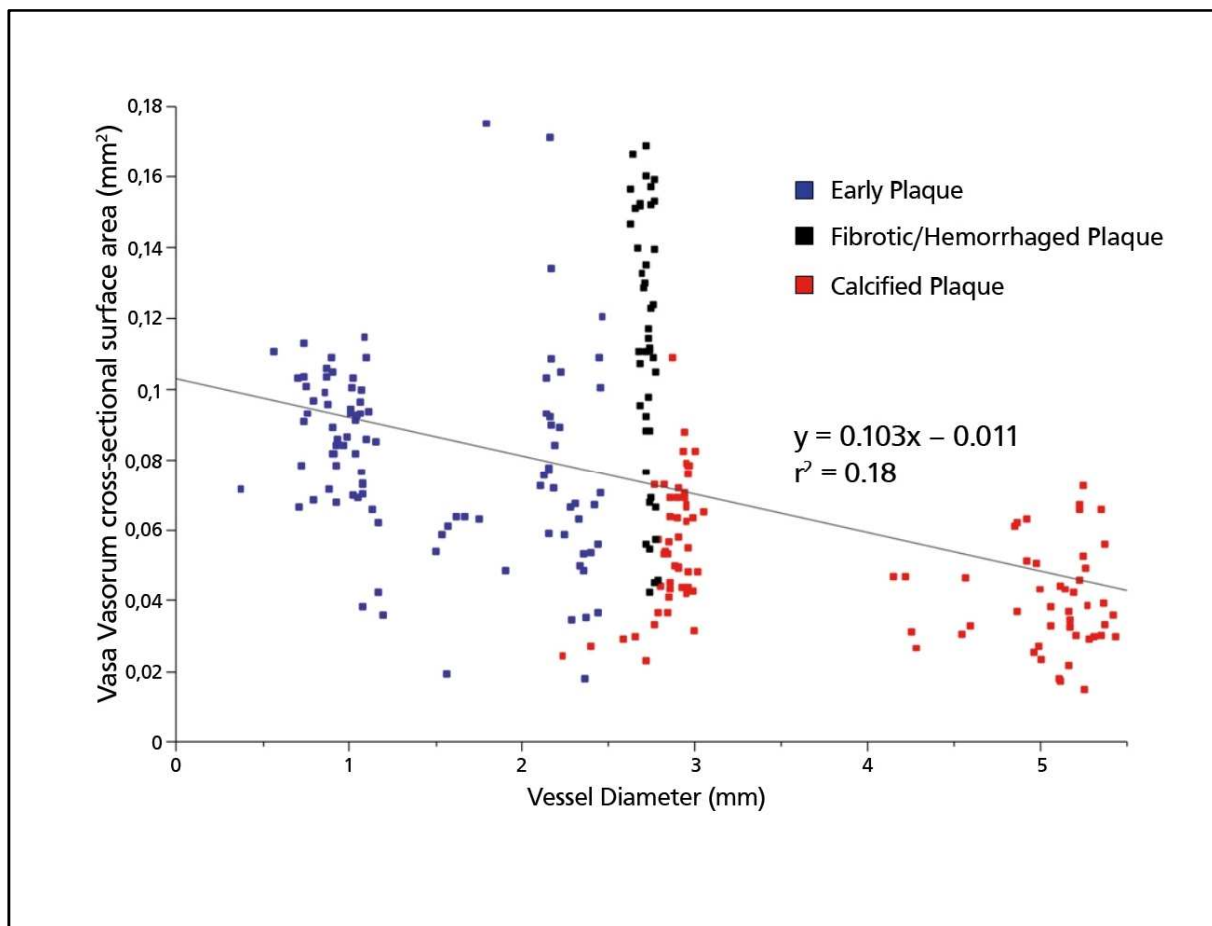


Abbildung 13: Zeigt die Querschnittsfläche der Vasa Vasorum im Verhältnis zum Gefäßdurchmesser getrennt nach Plaque-Typ.

3.1.2.4 Plaque Oberfläche im Verhältnis zum Gefäßdurchmesser

Durch die statistische Auswertung und Analyse konnte gezeigt werden, dass der Gefäßdurchmesser mit der Verteilung unterschiedlicher Plaquetypen korreliert. Frühe atherosklerotische Gefäßwandveränderungen finden sich in Gefäßen mit einem signifikant kleineren Gefäßdurchmesser im Vergleich zu fibrotischen/hämorrhagischen oder kalzifizierten Plaques. Es besteht tendenziell eine positive Korrelation zwischen der Gesamtfläche der Plaques und dem Gefäßdurchmesser ($r^2 = 0,45$).

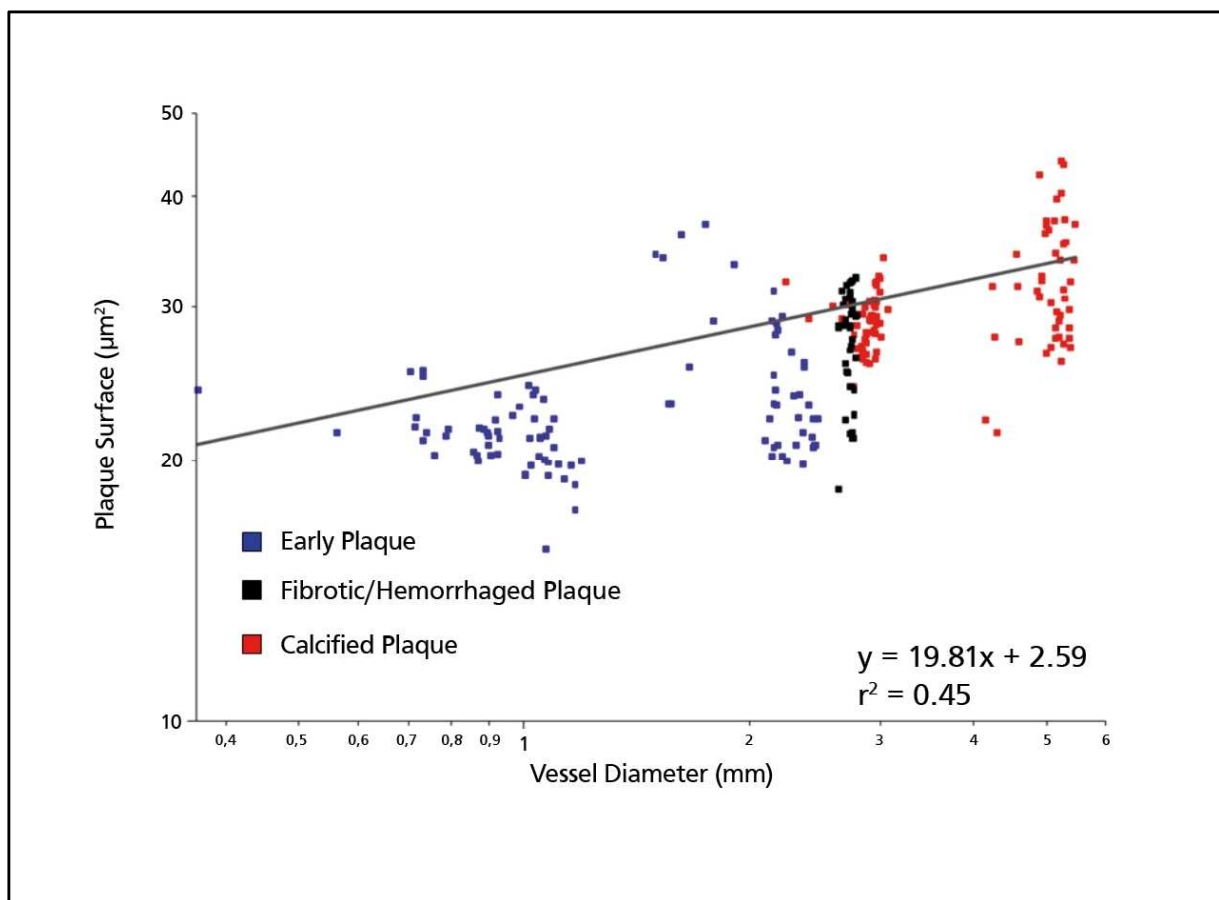


Abbildung 14: Aufgetragen ist die Plaqueoberfläche im Verhältnis zum Gefäßdurchmesser

3.1.2.5 Verhältnis der Dicke der Gefäßwand zum Gefäßlumen

Das Verhältnis von Gefäßwanddicke zur Weite des Gefäßlumens zeigte sich in Segmenten mit kalzifizierten Plaques signifikant größer als in Segmenten mit frühen oder fibrotischen/hämorrhagischen Plaques ($p < 0,001$). Dabei wurde für frühe Läsionen ein Gefäßwand/Lumen Quotient von $0,3398 \pm 0,0530$, für kalzifizierte Läsionen von $1,1328 \pm 0,7082$ und für fibrotische/hämorrhagische Läsionen von $0,3446 \pm 0,0507$ gemessen.

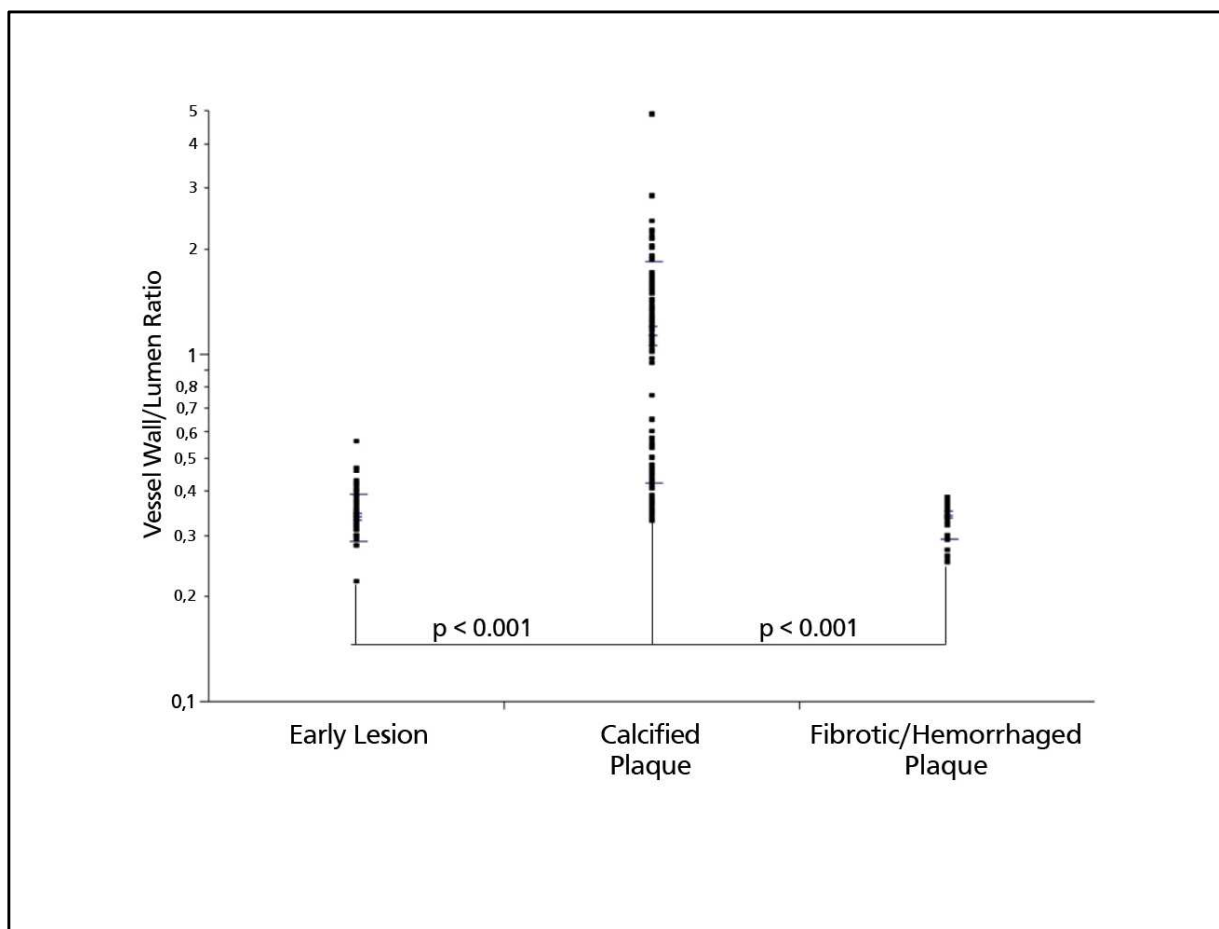


Abbildung 15: Zeigt das Verhältnis der Gefäßwanddicke zum Gefäßlumen getrennt nach Plaque-Typ.

4 Diskussion

Die Vasa Vasorum Neovaskularisierung der Gefäßwand ist ein Merkmal in der Entwicklung atherosklerotischer Plaques und ein Zeichen der Plaquevulnerabilität. In dieser Arbeit wurde das Vorkommen und die Verteilung der Vasa Vasorum in unterschiedlichen Plaquetypen in der peripheren Strombahn an humanen Unterschenkelamputaten untersucht. Auf der Basis vieler Studien konnte gezeigt werden, dass Vasa Vasorum eine bedeutende Rolle in der Entwicklung verschiedener, das Gefäßsystem betreffender Erkrankungen, spielen (Angervall et al., 1966, Atkinson et al., 1991, Barker et al., 1992, Cragg et al., 1983, Gossl et al., 2003, Barger et al., 1984).

4.1 Neovaskularisierung im atherosklerotisch veränderten Stromgebiet

Die Entwicklung und Lokalisation von Plaques kann, je nachdem in welcher Gefäßstrombahn sie am stärksten ausgeprägt sind, verschiedene klinische Symptome hervorrufen. Dabei bestehen signifikante Unterschiede in der Ausprägung atherosklerotischer Veränderungen der Gefäßwand abhängig davon, ob es sich um Koronararterien, zerebrale Arterien oder um die periphere Strombahn handelt. Dies wurde sowohl auf dem Boden klinischer Symptomatik (Duvall and Vorchheimer, 2004, Espinola-Klein et al., 2002, Sutton-Tyrrell et al., 2002), aus in Autopsien gewonnen Präparaten, (Pasterkamp et al., 1998, Weber et al., 1988) sowie in Tierversuchen (Galili et al., 2004, Galili et al., 2005) untersucht.

Vasa Vasorum entstehen bereits während der ersten Wochen der Embryogenese und entwickeln sich im Verlauf des Wachstums weiter. Die Volumenzunahme der Vasa Vasorum findet entsprechend der Dickenzunahme der Gefäßwand statt (Clarke, 1966b, Clarke, 1966a). Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Ausprägung von Vasa Vasorum vom Gefäßdurchmesser abhängig ist. Erst Gefäße mit einem Durchmesser von mehr als 0,5 mm besitzen Vasa Vasorum zur Versorgung der Media (Wolinsky and Glagov, 1967). Akute und chronische Entzündungen von großen Blutgefäßen, wie für

die Atherosklerose kennzeichnend, sind verknüpft mit einer Proliferation der Vasa Vasorum und stellen unter Umständen eine Möglichkeit der Versorgung der Gefäßwand nach Ausschöpfen der Versorgung durch Diffusion dar (Barger et al., 1984). Obwohl ein Zusammenhang zwischen der Ausprägung der Vasa Vasorum und der Beschaffenheit der Plaques als sicher angenommen wird, ist es nicht sicher, ob es sich dabei um einen ursächlichen oder reaktiven Zusammenhang handelt. Auch wenn die Vermehrung der Vasa Vasorum nur eine reaktive wäre, so kann sie in jedem Fall für das Fortschreiten der atherosklerotischen Gefäßläsionen als mitverantwortlich angesehen werden. Die Vermehrung der Vasa Vasorum sorgt für die Deckung des zunehmenden Bedarfs an Nährstoffen und Sauerstoff und ist gleichzeitig ein Wegbereiter für das Einwandern von immunologischen Zellen und weiteren inflammatorischen Faktoren bereits im Frühstadium der Atheroskleroseentwicklung (Moulton et al., 2003). So besteht die Möglichkeit, dass Vasa Vasorum das Eindringen von Monozyten/Makrophagen in die Gefäßwand unterstützen und damit Plaquehämmorrhagien auslösen können (O'Brien et al., 1996).

Die Tatsache, dass Vasa Vasorum bei der Plaqueentstehung einen aktiven Part besetzen, unterstützen die Daten einer Studie von Moulton et al. (Moulton et al., 2003). Sie konnten zeigen, dass eine pharmakologische Hemmung der Neoangiogenese der Vasa Vasorum mit Angiostatin zu einem langsameren Fortschreiten der atherosklerotischen Läsionen in apoE defizienten Mäusen führt. Auch konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass eine Hemmung der Plaquevaskularisierung möglicherweise zu einer Stabilisierung der Plaque führt.

Moreno et al. interpretierten das Fehlen von Vasa Vasorum Neovaskularisation in einer kalzifizierten Läsion vom Regressionstyp als Plaquestabilisierung durch Involution der Mikrogefäße (Moreno and Fuster, 2004). Demnach könnte eine therapeutische Hemmung der Vasa Vasorum Neovaskularisation dazu führen, dass aus einer instabilen vulnerablen Plaque eine prognostisch günstigere verkalkte Plaque entsteht (Wilson et al., 2002, Barker et al., 1994, Isner, 1996). Die vorliegende Arbeit analysiert die numerischen und planimetrischen Veränderungen der adventitiellen Vasa Vasorum bei unterschiedlichen Plaquetypen. Es konnte dabei nachgewiesen werden, dass die Anzahl der Vasa Vasorum in fibrotischen/hämorrhagischen Plaques signifikant höher

ist als in frühen oder kalzifizierten Plaques ($p < 0,001$). Die Anzahl der Vasa Vasorum ist jedoch unabhängig von der Gesamtfläche der Plaques. Ebenso ist die Gesamtfläche der Vasa Vasorum unabhängig vom Gefäßdurchmesser.

4.2 Bildgebung

In der klinischen Anwendung sind verschiedene bildgebende Methoden für die Gefäßdarstellung etabliert: wie die Mehrzeilen-CT, die Magnetresonanztomographie, die Angiographie oder der Ultraschall. Die räumliche Auflösung der Methoden liegt allerdings bei $> 400 \mu\text{m}$. Die histologische Untersuchung bleibt somit weiterhin der Goldstandard zur Darstellung von Strukturen kleinerer Größenordnung. Nachteilig bei histomorphometrischen Verfahren ist, dass nur einzelne Gefäßsegmente zur Untersuchung und Quantifizierung der Gefäßparameter herangezogen werden und anhand derer Rückschlüsse auf das gesamte Gefäß oder einen Gefäßabschnitt gezogen werden. Somit können beispielsweise Unregelmäßigkeiten einer Läsion oder Gefäßalterationen nicht zuverlässig erfasst werden. Des Weiteren können die Proben im Anschluss keiner anderen zusätzlichen bildgebenden Untersuchungen unterzogen werden, da ihre Integrität durch die Aufbereitung für die Histomorphometrie zerstört wird. Eine weitere Einschränkung besteht in der Zweidimensionalität dieses Messverfahrens. Die dreidimensionale Architektur der Gefäße kann nicht erfasst werden und kontinuierliche Messungen entlang der longitudinalen Achse sind nicht mehr durchführbar. Insofern ist es von großem Interesse detaillierte, quantitative Daten der Vasa Vasorum Neovaskularisierung, in deren dreidimensionalen Verlauf, vollständig zu erfassen.

Mittels Mikro-CT konnten bereits Plaquekomponenten in humanen Koronararterien differenziert werden (Langheinrich et al., 2004). Ebenso konnten mit dem Mikro-CT Daten zur Größe und Anzahl von Vasa Vasorum bei unterschiedlichen Plaquetypen gewonnen werden (Gossl et al., 2004). Die Technologie der Mikro-CT konnte sich damit in den letzten Jahren als Alternative zur Histologie in der ex-vivo Forschung etablieren (Jorgensen et al., 1998, Lerman and Ritman, 1999). Durch die Akquisition eines dreidimensionalen Bilddatensatzes mit hoher räumlicher Auflösung stellt die Mikro-CT eine Alternative zur Histologie dar. Neben der Gewebedifferenzierung ist auch eine

Quantifizierung des Kontrastmittelperfusats möglich, wodurch Aussagen zu Gefäßdichte, Gefäßoberfläche und zum Gefäßvolumen getroffen werden können. Zu Beginn wurde das Verfahren in der Erforschung der Osteoporose zur Morphometrie von spongiösem Knochen eingesetzt (Engelke et al., 1999). Da der Kontrast zwischen den Knochenbälkchen und Markräumen sehr hoch ist, konnten schon mit den ersten Geräten qualitativ hochwertige Bilder erzeugt werden (Kapadia et al., 1998, Shibata and Nagano, 1996). Das Anwendungsgebiet der Mikro-CT konnte in den letzten Jahren ausgebaut werden. Neben der deskriptiven 3D Darstellung und Vergleichsanalyse zur konventionellen Histologie konnte Ritman et al. erstmals Struktur-Funktionsbeziehungen von nutritiven Gefäßen und dem physiologischen Knochenremodeling in der Mikro-CT darstellen (Ritman et al., 1998). Durch neue vaskuläre Kontrastmittel und neue Perfusionstechniken konnte die Evaluierung der Gefäßarchitektur mittels Mikro-CT verbessert werden. Bereits in den 70er Jahren konnte gezeigt werden, dass durch die Verwendung von Microfil[®] eine lückenlose und homogene Perfusion des arteriellen Gefäßsystems in verschiedenen Organen möglich ist. Microfil[®] besteht aus zwei Komponenten (Blei und Silikon), die in wässriger Lösung vorliegen. Nach Vermischung der Komponenten härtet dieses Kontrastmittel nach 20 Minuten vollständig aus. Dabei führt Microfil[®] zu einem guten kapillären Kontrast. Des weiteren zeigt Microfil[®] hydrophobe Eigenschaften, die ein Austreten in den extravaskulären Raum verhindern.

Obwohl sich die Mikro-CT zur Quantifizierung von Gefäß- und Weichteilstrukturen etablieren konnte hat sie zwei große Nachteile:

Ein Nachteil besteht in dem begrenzten Volumen welches untersucht werden kann. Es kann, je nach Auflösung eine Probe von einigen cm^3 bis zu einigen mm^3 untersucht werden. Die Auflösung ist durch die Zahl der Pixel der CCD-Kamera noch limitiert. Damit kann eine Auflösung von etwa einem Tausendstel des größten Objektdurchmessers in der Ebene senkrecht zur Drehachse der Probe erreicht werden. Ein weiterer Nachteil ist die notwendige Kontrastmittelperfusion, um eine ausreichende Differenzierung des Gewebes zu ermöglichen, ebenso wie die Tatsache, dass nur ex-vivo Untersuchungen möglich sind.

Obwohl in den vorliegenden Aufnahmen keine Bildartefakte zu erkennen waren, können solche die Auswertbarkeit der Aufnahmen beeinträchtigen. Es sind mehrere Möglichkeiten der Artefaktbildung in der Mikro-CT bekannt. Dazu gehören Schatten-, Ring- und Kegelstrahlbildung. Durch solche Phänomene kann es zu einer fehlerhaften Grauwertverteilung in dem Datensatz kommen, was zu Problemen bei der Auswertung führen kann. Ebenso sind bei der Präparation der Proben Fehler möglich. Dabei kann es durch Injektion des Kontrastmittels mit zu hohem Druck oder durch Verletzungen in den Gefäßen zu einem Austritt des Kontrastmittels in das umliegende Gewebe kommen, so dass dieser Bereich im Verlauf der Auswertung fälschlicherweise als Teil des Gefäßnetzes erkannt werden könnte. Bei der Perfusion des Gefäßabschnittes mit Microfil[®] kann es zu einer Vermischung des Kontrastmittels mit Restblut kommen. Dies kann zu einer ungleichen Aushärtung des Kontrastmittels führen. Diese lückenhafte Gefäßperfusion kann zu einer Berechnung eines falsch zu kleinen Gefäßdurchmessers führen.

Trotz der beschriebenen Einschränkungen konnte sich die Mikro-CT im Bereich der Grundlagenforschung als ein zur Histologie ergänzendes Verfahren etablieren. Diese Etablierung ist insbesondere durch die Tatsache möglich, dass es mit der Mikro-CT möglich ist dreidimensionale Strukturen zu erfassen, zu vermessen und die Proben im Anschluss noch für eine histologische Aufarbeitung zur Verfügung stehen.

4.3 Vergleich mit anderen Arbeiten

In bereits publizierten Arbeiten wurden die Zusammenhänge zwischen der Atherosklerose und der Entwicklung von Vasa Vasorum bereits mehrfach beschrieben. So konnten Moulton et al. zeigen, dass es in atherosklerotische veränderten Gefäßen zu einer Zunahme der Dichte von Vasa Vasorum kommt (Moulton, 2001). In einer Studie von Langheinrich et al. wurde der Zusammenhang zwischen der Vasa Vasorum Neovaskularisation und der Plaqueprogression in Aorten von ApoE^{-/-}/LDL^{-/-}-Doppel-Knockout-Mäusen untersucht. Dabei fand sich die höchste Dichte an Vasa Vasorum an der Aorta descendens. Das Volumen der Vasa Vasorum nahm unabhängig von der Lokalisation des atherosklerotisch veränderten Gefäßes mit der Größe der atherosklerotischen Läsion zu. Diese Ergebnisse lassen einen direkten Zusammenhang

zwischen Plaquewachstum und der Entwicklung der Vasa Vasorum vermuten (Langheinrich et al., 2007b). In einer weiteren Arbeit am Tiermodell konnte nachgewiesen werden, dass eine hohe Korrelation zwischen der Anzahl bzw. Gesamtfläche der Vasa Vasorum und dem atherosklerotischen Läsionstyp besteht. Hämorrhagische Plaques zeigen dabei die höchste Dichte an Vasa Vasorum, wohingegen kalzifizierte Läsionen die geringste Anzahl und luminale Gesamtfläche der Vasa Vasorum aufwiesen. Eine Wechselbeziehung zwischen der Dichte der Vasa Vasorum und der Plaquefläche lag nicht vor (Kampschulte et al., 2010). Die Ergebnisse dieser Arbeit zum Verteilungsmuster von Vasa Vasorum in humanen Unterschenkelamputaten decken sich mit den Ergebnissen anderer bereits vorliegender Studien sowohl am Tiermodell (Langheinrich et al., 2007c), als auch in humanen Proben (Moreno et al., 2004). Die periphere humane Gefäßstrombahn wurde allerdings mit dieser Arbeit erstmalig untersucht.

4.4 Ausblicke

Die Behandlung der Atherosklerose erfolgt meist erst nachdem es durch eine der assoziierten Erkrankungen zu einer klinischen Symptomatik gekommen ist. Das ist darauf zurückzuführen, dass die Diagnose atherosklerotischer Wandveränderungen im Frühstadium in vivo bis heute nur eingeschränkt möglich sind. Folglich fehlt die Möglichkeit durch eine frühe Intervention eine Plaqueruptur zu verhindern. Allerdings wäre auch bei einer frühzeitigen Diagnostik kein Rückgang der atherosklerotischen Gefäßveränderungen zu erwarten, einzig eine Vermeidung der beeinflussbaren Risikofaktoren kann die Geschwindigkeit des Fortschreitens der Erkrankung verlangsamen (Naghavi et al., 2003). Aufgrund der demographischen Entwicklung in Deutschland muß in Zukunft damit gerechnet werden, dass sich immer mehr Patienten wegen den Folgen einer Atherosklerose in Behandlung befinden werden. Auch die finanzielle Belastung für das Gesundheitssystem darf man dabei nicht aus dem Auge verlieren. Leider konnten bis jetzt keine genauen Daten darüber gewonnen werden, was die Behandlung eines pAVK Patienten kostet. Aus zwei neueren Studien geht allerdings hervor, dass die Behandlungskosten mit dem Schweregrad der Erkrankung zunehmen und sich im Bereich von 511 € bis 22.420 € pro Patient und Jahr bewegen.

Trotz kostenintensiver Behandlung nimmt die Lebensqualität der Betroffenen im Verlauf der Erkrankung ab (Holler, 2004, Knipfer, 2007). Deshalb sollten auch in den nächsten Jahren weitere Anstrengungen unternommen werden die Gefäßdarstellung in vivo auszubauen, um eines Tages eine frühzeitige Diagnostik der Atherosklerose und damit, eine frühzeitige Behandlung zu ermöglichen, um die Lebensqualität der Patienten so lange wie möglich auf hohem Niveau erhalten zu können.

5 Schlussfolgerung

Die Anzahl von Vasa Vasorum in atherosklerotischen Gefäßen der humanen peripheren Gefäßstrombahn ist abhängig vom Plaquetyp und jeweils am größten in fibrotischen/hämorrhagischen Plaques. Da dieser Plaquetyp in besonderem Maße vulnerabel ist, lässt die Analyse von Vasa Vasorum innerhalb atherosklerotischer Plaques folglich Rückschlüsse auf deren Vulnerabilität zu. Die Gesamtfläche des Plaque und der Gefäßdurchmesser korrelieren nicht mit dem Vorkommen von Vasa Vasorum und eignen sich somit nicht zur Abschätzung der Vulnerabilität.

6 Einschränkungen

Sicher kann diese Arbeit keinen Überblick über die Allgemeinbevölkerung bieten, da es sich um ein hoch selektives Patientengut handelt. Es wurden nur solche Patienten einbezogen, bei denen es aufgrund von Gefäßproblemen bereits zu einer Amputation der Extremität gekommen war. Lediglich bei einem Patienten wurde das Bein aufgrund eines Malignoms amputiert. Doch auch bei diesem Patienten konnten, bei fortgeschrittenem Alter, atherosklerotische Veränderungen gefunden werden. Trotz des selektiven Patientengutes wurden von allen klassifizierten Plaquetypen eine ausreichende Zahl Querschnitte ausgewertet.

Die vorliegende Arbeit erfasst quantitativ, durch Atherosklerose bedingte Veränderungen der peripheren Gefäßstrombahn am Beispiel humaner Unterschenkelamputate. Anhand der Messwerte konnte eine Vergleichsanalyse vorgenommen werden. Aussagen zum Zusammenhang zwischen einer Neovaskularisation durch Vasa Vasorum bei verschiedenen Plaquetypen sind daher möglich. Der Kausalitätszusammenhang kann mit dieser Arbeit jedoch nicht hergestellt werden.

7 Zusammenfassung

7.1 Deutsch

Die Neovaskularisierung der Gefäßwand mit Vasa Vasorum ist ein Merkmal der Entwicklung atherosklerotischer Plaques und ein Zeichen der Plaquevulnerabilität. Es wurde das Vorkommen und die Verteilung der Vasa Vasorum in der peripheren Gefäßstrombahn anhand humaner Unterschenkelamputate untersucht.

Dafür wurden arterielle Gefäßsegmente ($n = 5$) frisch amputierter humaner Unterschenkel ($n = 7$) nach Perfusion mit dem Kontrastmittel Microfil[®] in-situ entnommen und mittels Mikro-CT untersucht. Insgesamt wurden 240 Gefäßquerschnitte in der Mikro-CT und Histologie planimetrisch erfasst. Alle Gefäßsegmente wurden histopathologisch aufgearbeitet und die detektierten Plaquetypen mit dem Mikro-CT korreliert. Dabei wurden, für jeden Plaquetyp getrennt, die Anzahl und die Gesamtfläche der Vasa Vasorum pro Querschnitt quantifiziert.

Es konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der Vasa Vasorum in fibrotischen/hämorrhagischen Plaques signifikant höher ist als in frühen oder kalzifizierten Plaques ($p < 0,001$). Der Gefäßdurchmesser korreliert dabei mit der Verteilung unterschiedlicher Plaquetypen. Frühe atherosklerotische Gefäßwandveränderungen finden sich häufiger in Gefäßen die einen signifikant kleineren Gefäßdurchmesser aufweisen im Vergleich zu fibrotischen/hämorrhagischen oder kalzifizierten Plaques. Es besteht eine positive Korrelation zwischen der Gesamtfläche der Plaques und dem Gefäßdurchmesser ($r^2 = 0,45$). Die Anzahl der Vasa Vasorum ist jedoch unabhängig von der Gesamtfläche der Plaques ($r^2 = 0,01$) ebenso ist die Gesamtfläche der Vasa Vasorum unabhängig vom Gefäßdurchmesser ($r^2 = 0,18$). Die Anzahl der Vasa Vasorum in atherosklerotischen Plaques der peripheren Gefäßstrombahn ist abhängig vom Plaquetyp und am größten in fibrotischen/hämorrhagischen Plaques. Die Analyse von Vasa Vasorum innerhalb atherosklerotischer Plaques lässt folglich Rückschlüsse auf deren Vulnerabilität zu.

7.2 Englisch

Pathological neovascularisation of the artery wall is a consistent, well-known feature of plaque development/progression.

Human lower limb amputates ($n = 7$) were perfused with contrast agent and micro-CT imaging was performed. 240 transverse micro-CT images from 5 different amputates were evaluated. The results were compared with those obtained from a detailed conventional histomorphometric analysis of corresponding cross sections.

The vasa-vasorum-density was highest in fibrotic/hemorrhage plaques ($p < 0,001$).

There was no correlation found between the number of vasa vasorum and the plaque surface ($r^2 = 0,01$). The vasa vasorum cross-sectional area is not correlated with the vessel diameter ($r^2 = 0,18$).

The vessel diameter showed significant differences depending on the adjacent atherosclerotic lesion type. Early lesions are found in arteries with significant smaller vessel diameter compared to fibrotic/hemorrhage or calcified plaques.

The plaque surface correlate with the vessel diameter ($r^2 = 0,45$)

The present study demonstrates micro-CT's technical feasibility to evaluate vasa vasorum neovascularisation in human lower limb amputates. Vasa vasorum neovascularisation is correlated with different types of atherosclerotic lesions.

8 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
ABI	Ankle-brachial-index
AHA	American heart association
bzw.	Beziehungsweise
ca.	zirka
CCD	Charge coupled Device
cm	Zentimeter
cm ³	Kubikzentimeter
CT	Computertomographie
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
et al.	et alii/ et aliae, lateinisch für „und andere“
FKDS	farbkodierte Duplexsonographie
FOV	Field of view
HE	Hämatoxylin Eosin
KHK	Koronare Herzerkrankung
kV	Kilo Volt
MIP	Maximum Intensitäts Projektion
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mm ³	Kubikmillimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MR	Magnet Resonanz
MRT	Magnet Resonanz Tomograph(ie)
µm	Mikrometer
NaCl	Natriumchlorid
n.s.	nicht signifikant
p.	page, englisch für Seite
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PTA	Perkutane transluminale Angiographie

TNF α	Tumor Nekrose Faktor α
u.a.	unter anderem
VRT	Volume Rendering
VVE	Vasa Vasorum externa
VVI	Vasa Vasorum interna
VVV	Venöse Vasa Vasorum
WHO	Weltgesundheitsorganisation

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Seite
Abbildung 1: Atherosklerotische Läsion Stadium II nach AHA.	15
Abbildung 2: Stabile Plaque nach AHA.	16
Abbildung 3: Vulnerable Plaque nach AHA.	17
Abbildung 4: Plaqueentwicklung nach AHA.	18
Abbildung 5: Darstellung der Plaqueruptur nach AHA.	19
Abbildung 6: Klassifikation der Vasa Vasorum.	21
Abbildung 7: Darstellung des Aufbaus eines Mikro-CT.	26
Abbildung 8: 64-Zeilen Dual-Source-Computertomographie humaner Unterschenkel unmittelbar nach Amputation.	35
Abbildung 9: Vergleich 64-Zeilen Dual-Source-CT, Mikro-CT und Histologie.	36
Abbildung 10: Darstellung der Absorptionswerte von verschiedenen Plaquestrukturen mit histologischer Korrelation.	37
Abbildung 11: Grafische Darstellung der Anzahl der Vasa Vasorum pro Schnittbild in Bezug auf die unterschiedlichen Plaquetypen.	38
Abbildung 12: Anzahl der Vasa Vasorum im Verhältnis zur Plaquefläche.	39
Abbildung 13: Querschnittsfläche der Vasa Vasorum im Verhältnis zum Gefäßdurchmesser getrennt nach Plaque-Typ.	40
Abbildung 14: Plaqueoberfläche im Verhältnis zum Gefäßdurchmesser.	41
Abbildung 15: Verhältnis der Gefäßwanddicke zum Gefäßlumen getrennt nach Plaque-Typ.	42

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle	Seite
Tabelle 1: Klassifikation der pAVK nach den Fontaine-Stadien und Rutherford-Kategorien.	2
Tabelle 2: ABI-Kategorien zur Abschätzung des pAVK Schweregrades.	4
Tabelle 3: Einteilung atherosklerotischer Läsionen nach der Klassifikation der American Heart Association.	14

11 Quellenverzeichnis

2005. [Peripheral arterial occlusive disease: getABI Study]. *Krankenpfl J*, 43, 255-6.
2009. *Leitlinien zur Diagnostik und Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (PAVK)* [Online]. Deutsche Gesellschaft für Angiologie - Gesellschaft für Gefäßmedizin e.V. (DGA). [Accessed 31.01. 2012].
- AMERICAN HEART ASSOCIATION, I. 2012. *Animation of atherosclerosis* [Online]. http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Cholesterol/WhyCholesterolMatters/Atherosclerosis_UCM_305564_Article.jsp. [Accessed 09.04.2013 2013].
- ANGERVALL, L., DAHL, I. & SAVE-SODERBERGH, J. 1966. The aortic vasa vasorum in juvenile diabetes. *Pathol Microbiol (Basel)*, 29, 431-7.
- ATKINSON, J. L., OKAZAKI, H., SUNDT, T. M., JR., NICHOLS, D. A. & RUFENACHT, D. A. 1991. Intracranial cerebrovascular vasa vasorum associated with atherosclerosis and large thick-walled aneurysms. *Surg Neurol*, 36, 365-9.
- BABALIK, E., GULBARAN, M., GURMEN, T. & OZTURK, S. 2003. Fracture of popliteal artery stents. *Circ J*, 67, 643-5.
- BARGER, A. C., BEEUWKES, R., 3RD, LAINEY, L. L. & SILVERMAN, K. J. 1984. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med*, 310, 175-7.
- BARKER, S. G., CAUSTON, B. E., BASKERVILLE, P. A., GENT, S. & MARTIN, J. F. 1992. The vasa vasorum of the rabbit carotid artery. *J Anat*, 180 (Pt 2), 225-31.
- BARKER, S. G., TALBERT, A., COTTAM, S., BASKERVILLE, P. A. & MARTIN, J. F. 1993. Arterial intimal hyperplasia after occlusion of the adventitial vasa vasorum in the pig. *Arterioscler Thromb*, 13, 70-7.
- BARKER, S. G., TILLING, L. C., MILLER, G. C., BEESLEY, J. E., FLEETWOOD, G., STAVRI, G. T., BASKERVILLE, P. A. & MARTIN, J. F. 1994. The adventitia and atherogenesis: removal initiates intimal proliferation in the rabbit which regresses on generation of a 'neoadventitia'. *Atherosclerosis*, 105, 131-44.
- BARTON, M. & HAUDENSCHILD, C. C. 2001. Endothelium and atherogenesis: endothelial therapy revisited. *J Cardiovasc Pharmacol*, 38 Suppl 2, S23-5.
- BENDERMACHER, B. L., WILLIGENDAEL, E. M., TEIJINK, J. A. & PRINS, M. H. 2005. Medical management of peripheral arterial disease. *J Thromb Haemost*, 3, 1628-37.
- BHATT, D. L., STEG, P. G., OHMAN, E. M., HIRSCH, A. T., IKEDA, Y., MAS, J. L., GOTO, S., LIAU, C. S., RICHARD, A. J., ROTHER, J. & WILSON, P. W. 2006. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *JAMA*, 295, 180-9.
- BLAKE, G. J. & RIDKER, P. M. 2002. Tumour necrosis factor-alpha, inflammatory biomarkers, and atherogenesis. *Eur Heart J*, 23, 345-7.
- BOCKLER, D., BLAUROCK, P., MANSMANN, U., SCHWARZBACH, M., SEELOS, R., SCHUMACHER, H. & ALLENBERG, J. R. 2005. Early surgical outcome after failed primary stenting for lower limb occlusive disease. *J Endovasc Ther*, 12, 13-21.
- BOOTH, R. F., MARTIN, J. F., HONEY, A. C., HASSALL, D. G., BEESLEY, J. E. & MONCADA, S. 1989. Rapid development of atherosclerotic lesions in the rabbit carotid artery induced by perivascular manipulation. *Atherosclerosis*, 76, 257-68.
- BOSTROM, A., KARACAGIL, S., LOFBERG, A. M., LJUNGMAN, C., NYMAN, R., LOGASON, K. & HELLBERG, A. 2001. Selection of patients with lower limb arterial occlusive disease for endovascular treatment of the iliac arteries with duplex scanning. *Vasc Surg*, 35, 437-42.

- BOULTON, A. J., GRIES, F. A. & JERVELL, J. A. 1998. Guidelines for the diagnosis and outpatient management of diabetic peripheral neuropathy. *Diabet Med*, 15, 508-14.
- BRASEN, J. H. & NIENDORF, A. 1997. [Atherosclerosis. Formal pathogenesis, classification and functional significance]. *Pathologe*, 18, 218-27.
- CASSAR, K., BACHOO, P., FORD, I., GREAVES, M. & BRITTENDEN, J. 2003. Platelet activation is increased in peripheral arterial disease. *J Vasc Surg*, 38, 99-103.
- CLAGETT, G. P., SOBEL, M., JACKSON, M. R., LIP, G. Y., TANGELDER, M. & VERHAEGHE, R. 2004. Antithrombotic therapy in peripheral arterial occlusive disease: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*, 126, 609S-626S.
- CLARKE, J. A. 1965a. The vasa vasorum of normal human lower limb arteries. *Acta Anat (Basel)*, 61, 481-7.
- CLARKE, J. A. 1965b. An x-ray microscopic study of the postnatal development of the vasa vasorum in human upper limb arteries. *Anat Anz*, 116, 345-51.
- CLARKE, J. A. 1966a. An x-ray microscopic study of the development of the vasa vasorum in the human foetal aorta and pulmonary trunk. *Acta Anat (Basel)*, 63, 55-70.
- CLARKE, J. A. 1966b. An x-ray microscopic study of the postnatal development of the vasa vasorum of normal human coronary arteries. *Acta Anat (Basel)*, 64, 506-16.
- COLLINS, R., ARMITAGE, J., PARISH, S., SLEIGH, P. & PETO, R. 2003. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 361, 2005-16.
- COLLINS, R., BURCH, J., CRANNY, G., AGUIAR-IBANEZ, R., CRAIG, D., WRIGHT, K., BERRY, E., GOUGH, M., KLEIJNEN, J. & WESTWOOD, M. 2007. Duplex ultrasonography, magnetic resonance angiography, and computed tomography angiography for diagnosis and assessment of symptomatic, lower limb peripheral arterial disease: systematic review. *BMJ*, 334, 1257.
- CONTE, M. S., BELKIN, M., UPCHURCH, G. R., MANNICK, J. A., WHITTEMORE, A. D. & DONALDSON, M. C. 2001. Impact of increasing comorbidity on infrainguinal reconstruction: a 20-year perspective. *Ann Surg*, 233, 445-52.
- CRAGG, A. H., EINZIG, S., RYSAVY, J. A., CASTANEDA-ZUNIGA, W. R., BORGWARDT, B. & AMPLATZ, K. 1983. The vasa vasorum and angioplasty. *Radiology*, 148, 75-80.
- CRIQUI, M. H., FRONEK, A., BARRETT-CONNOR, E., KLAUBER, M. R., GABRIEL, S. & GOODMAN, D. 1985. The prevalence of peripheral arterial disease in a defined population. *Circulation*, 71, 510-5.
- DAVIES, M. J., RICHARDSON, P. D., WOOLF, N., KATZ, D. R. & MANN, J. 1993. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J*, 69, 377-81.
- DAVIES, M. J. & WOOLF, N. 1993. Atherosclerosis: what is it and why does it occur? *Br Heart J*, 69, S3-11.
- DIEHM, C., DARIUS, H., PITTRROW, D. & ALLENBERG, J. R. 2005. Knöchel-Arm-Index: Ein wegweisender Risikomarker für die hausärztliche Praxis. *Dtsch Arztebl*, 102, 2310-.
- DIEHM, C., LANGE, S., DARIUS, H., PITTRROW, D., VON STRITZKY, B., TEPOHL, G., HABERL, R. L., ALLENBERG, J. R., DASCH, B. & TRAMPISCH, H. J. 2006. Association of low ankle brachial index with high mortality in primary care. *Eur Heart J*, 27, 1743-9.
- DIEHM, C., SCHUSTER, A., ALLENBERG, J. R., DARIUS, H., HABERL, R., LANGE, S., PITTRROW, D., VON STRITZKY, B., TEPOHL, G. & TRAMPISCH, H. J. 2004. High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study. *Atherosclerosis*, 172, 95-105.
- DIEHM, C. & TRAMPISCH, H.-J. 2009. Definition und Epidemiologie. *Vasa*, 38, 9-12.

- DOLAN, N. C., LIU, K., CRIQUI, M. H., GREENLAND, P., GURALNIK, J. M., CHAN, C., SCHNEIDER, J. R., MANDAPAT, A. L., MARTIN, G. & MCDERMOTT, M. M. 2002. Peripheral artery disease, diabetes, and reduced lower extremity functioning. *Diabetes Care*, 25, 113-20.
- DORROS, G., JAFF, M. R., DORROS, A. M., MATHIAK, L. M. & HE, T. 2001. Tibioperoneal (outflow lesion) angioplasty can be used as primary treatment in 235 patients with critical limb ischemia: five-year follow-up. *Circulation*, 104, 2057-62.
- DUVALL, W. L. & VORCHHEIMER, D. A. 2004. Multi-bed vascular disease and atherothrombosis: scope of the problem. *J Thromb Thrombolysis*, 17, 51-61.
- ENGELKE, K., KAROLCZAK, M., LUTZ, A., SEIBERT, U., SCHALLER, S. & KALENDER, W. 1999. [Micro-CT. Technology and application for assessing bone structure]. *Radiologe*, 39, 203-12.
- ESPINOLA-KLEIN, C., RUPPRECHT, H. J., BICKEL, C., LACKNER, K., SAVVIDIS, S., MESSOW, C. M., MUNZEL, T. & BLANKENBERG, S. 2008. Different calculations of ankle-brachial index and their impact on cardiovascular risk prediction. *Circulation*, 118, 961-7.
- ESPINOLA-KLEIN, C., RUPPRECHT, H. J., BLANKENBERG, S., BICKEL, C., PETH, S., KOPP, H., VICTOR, A., HAFNER, G. & MEYER, J. 2002. [Manifestations of atherosclerosis in various vascular regions. Similarities and differences regarding epidemiology, etiology and prognosis]. *Med Klin (Munich)*, 97, 221-8.
- FAGLIA, E., MANTERO, M., CAMINITI, M., CARAVAGGI, C., DE GIGLIO, R., PRITELLI, C., CLERICI, G., FRATINO, P., DE CATA, P., DALLA PAOLA, L., MARIANI, G., POLI, M., SETTEMBRINI, P. G., SCIANGULA, L., MORABITO, A. & GRAZIANI, L. 2002. Extensive use of peripheral angioplasty, particularly infrapopliteal, in the treatment of ischaemic diabetic foot ulcers: clinical results of a multicentric study of 221 consecutive diabetic subjects. *J Intern Med*, 252, 225-32.
- FLEINER, M., KUMMER, M., MIRLACHER, M., SAUTER, G., CATHOMAS, G., KRAPF, R. & BIEDERMANN, B. C. 2004. Arterial neovascularization and inflammation in vulnerable patients: early and late signs of symptomatic atherosclerosis. *Circulation*, 110, 2843-50.
- GAEDE, P., VEDEL, P., LARSEN, N., JENSEN, G. V., PARVING, H. H. & PEDERSEN, O. 2003. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 348, 383-93.
- GALILI, O., HERRMANN, J., WOODRUM, J., SATTLER, K. J., LERMAN, L. O. & LERMAN, A. 2004. Adventitial vasa vasorum heterogeneity among different vascular beds. *J Vasc Surg*, 40, 529-35.
- GALILI, O., SATTLER, K. J., HERRMANN, J., WOODRUM, J., OLSON, M., LERMAN, L. O. & LERMAN, A. 2005. Experimental hypercholesterolemia differentially affects adventitial vasa vasorum and vessel structure of the left internal thoracic and coronary arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 129, 767-72.
- GARG, P. K., TIAN, L., CRIQUI, M. H., LIU, K., FERRUCCI, L., GURALNIK, J. M., TAN, J. & MCDERMOTT, M. M. 2006. Physical activity during daily life and mortality in patients with peripheral arterial disease. *Circulation*, 114, 242-8.
- GEIRINGER, E. 1951. Intimal vascularization and atherosclerosis. *J Pathol Bacteriol*, 63, 201-11.
- GIANNOTTI, G. & LANDMESSER, U. 2007. Endothelial dysfunction as an early sign of atherosclerosis. *Herz*, 32, 568-72.
- GOLOMB, B. A., DANG, T. T. & CRIQUI, M. H. 2006. Peripheral arterial disease: morbidity and mortality implications. *Circulation*, 114, 688-99.
- GORDON, T., KANNEL, W. B., CASTELLI, W. P. & DAWBER, T. R. 1981. Lipoproteins, cardiovascular disease, and death. The Framingham study. *Arch Intern Med*, 141, 1128-31.

- GOSSL, M., ROSOL, M., MALYAR, N. M., FITZPATRICK, L. A., BEIGHLEY, P. E., ZAMIR, M. & RITMAN, E. L. 2003. Functional anatomy and hemodynamic characteristics of vasa vasorum in the walls of porcine coronary arteries. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 272, 526-37.
- GOSSL, M., ZAMIR, M. & RITMAN, E. L. 2004. Vasa vasorum growth in the coronary arteries of newborn pigs. *Anat Embryol (Berl)*, 208, 351-7.
- HEIDRICH, H. & LAWALL, H. 2009. Konservative Therapie der PAVK. *Vasa*, 38, 26-35.
- HEISTAD, D. D. & ARMSTRONG, M. L. 1986. Blood flow through vasa vasorum of coronary arteries in atherosclerotic monkeys. *Arteriosclerosis*, 6, 326-31.
- HENRY, M., KLONARIS, C., AMOR, M., HENRY, I. & TZVETANOV, K. 2000. State of the art: which stent for which lesion in peripheral interventions? *Tex Heart Inst J*, 27, 119-26.
- HIRSCH, A. T., CRIQUI, M. H., TREAT-JACOBSON, D., REGENSTEINER, J. G., CREAGER, M. A., OLIN, J. W., KROOK, S. H., HUNNINGHAKE, D. B., COMEROTA, A. J., WALSH, M. E., MCDERMOTT, M. M. & HIATT, W. R. 2001. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA*, 286, 1317-24.
- HIRSCH, A. T., HASKAL, Z. J., HERTZER, N. R., BAKAL, C. W., CREAGER, M. A., HALPERIN, J. L., HIRATZKA, L. F., MURPHY, W. R., OLIN, J. W., PUSCHETT, J. B., ROSENFELD, K. A., SACKS, D., STANLEY, J. C., TAYLOR, L. M., JR., WHITE, C. J., WHITE, J., WHITE, R. A., ANTMAN, E. M., SMITH, S. C., JR., ADAMS, C. D., ANDERSON, J. L., FAXON, D. P., FUSTER, V., GIBBONS, R. J., HUNT, S. A., JACOBS, A. K., NISHIMURA, R., ORNATO, J. P., PAGE, R. L. & RIEGEL, B. 2006. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease): endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation. *Circulation*, 113, e463-654.
- HIRSCH, A. T., TREAT-JACOBSON, D., LANDO, H. A. & HATSUKAMI, D. K. 1997. The role of tobacco cessation, antiplatelet and lipid-lowering therapies in the treatment of peripheral arterial disease. *Vasc Med*, 2, 243-51.
- HOLLAND-LETZ, T., ENDRES, H. G., BIEDERMANN, S., MAHN, M., KUNERT, J., GROH, S., PITTRROW, D., VON BILDERLING, P., STERNITZKY, R. & DIEHM, C. 2007. Reproducibility and reliability of the ankle-brachial index as assessed by vascular experts, family physicians and nurses. *Vasc Med*, 12, 105-12.
- HOLLER, D. 2004. *Gesundheitsökonomische Aspekte der Versorgung chronisch Kranker am Beispiel der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit - Eine Analyse aus Sicht der Gesellschaft und der Krankenversicherung.*, Karlsruhe., Verlag Versicherungswirtschaft: Karlsruhe.
- HUPPERT, P., STIEGLER, H. & TACKE, J. 2009. Diagnose der PAVK. *Vasa*, 38, 13-22.
- ISNER, J. M. 1996. Vasa vasorum: therapeutic implications. *Cathet Cardiovasc Diagn*, 39, 221-3.
- JAMSEN, T. S., MANNINEN, H. I., JAAKKOLA, P. A. & MATSI, P. J. 2002. Long-term outcome of patients with claudication after balloon angioplasty of the femoropopliteal arteries. *Radiology*, 225, 345-52.
- JAMSEN, T. S., MANNINEN, H. I., TULLA, H. E., JAAKKOLA, P. A. & MATSI, P. J. 2003. Infrainguinal revascularization because of claudication: total long-term outcome of endovascular and surgical treatment. *J Vasc Surg*, 37, 808-15.

- JORGENSEN, S. M., DEMIRKAYA, O. & RITMAN, E. L. 1998. Three-dimensional imaging of vasculature and parenchyma in intact rodent organs with X-ray micro-CT. *Am J Physiol*, 275, H1103-14.
- KAMPSCHULTE, M., BRINKMANN, A., STIEGER, P., SEDDING, D. G., DIERKES, C., BOHLE, R. M., KROMBACH, G., RITMAN, E. L. & LANGHEINRICH, A. C. 2010. Quantitative CT imaging of the spatio-temporal distribution patterns of vasa vasorum in aortas of apoE^{-/-}/LDL^{-/-} double knockout mice. *Atherosclerosis*, 212, 444-50.
- KAPADIA, R. D., STROUP, G. B., BADGER, A. M., KOLLER, B., LEVIN, J. M., COATNEY, R. W., DODDS, R. A., LIANG, X., LARK, M. W. & GOWEN, M. 1998. Applications of micro-CT and MR microscopy to study pre-clinical models of osteoporosis and osteoarthritis. *Technol Health Care*, 6, 361-72.
- KATZEL, L. I., SORKIN, J. D., POWELL, C. C. & GARDNER, A. W. 2001. Comorbidities and exercise capacity in older patients with intermittent claudication. *Vasc Med*, 6, 157-62.
- KHAN, N. A., RAHIM, S. A., ANAND, S. S., SIMEL, D. L. & PANJU, A. 2006. Does the clinical examination predict lower extremity peripheral arterial disease? *JAMA*, 295, 536-46.
- KNIPFER, E. 2007. *Lebensqualität und Behandlungskosten bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit (PAVK)* [Online]. Halle-Wittenberg. [Accessed 29.11. 2011].
- KOLODGIE, F. D., VIRMANI, R., BURKE, A. P., FARB, A., WEBER, D. K., KUTYS, R., FINN, A. V. & GOLD, H. K. 2004. Pathologic assessment of the vulnerable human coronary plaque. *Heart*, 90, 1385-91.
- KUMAMOTO, M., NAKASHIMA, Y. & SUEISHI, K. 1995. Intimal neovascularization in human coronary atherosclerosis: its origin and pathophysiological significance. *Hum Pathol*, 26, 450-6.
- KWON, H. M., SANGIORGI, G., RITMAN, E. L., MCKENNA, C., HOLMES, D. R., JR., SCHWARTZ, R. S. & LERMAN, A. 1998. Enhanced coronary vasa vasorum neovascularization in experimental hypercholesterolemia. *J Clin Invest*, 101, 1551-6.
- LANGE, S., DIEHM, C., DARIUS, H., HABERL, R., ALLENBERG, J. R., PITTRROW, D., SCHUSTER, A., VON STRITZKY, B., TEPOHL, G. & TRAMPISCH, H. J. 2004. High prevalence of peripheral arterial disease and low treatment rates in elderly primary care patients with diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 112, 566-73.
- LANGHEINRICH, A. C. & BOHLE, R. M. 2005. Atherosclerosis: humoral and cellular factors of inflammation. *Virchows Arch*, 446, 101-11.
- LANGHEINRICH, A. C., BOHLE, R. M., GRESCHUS, S., HACKSTEIN, N., WALKER, G., VON GERLACH, S., RAU, W. S. & HOLSCHERMANN, H. 2004. Atherosclerotic lesions at micro CT: feasibility for analysis of coronary artery wall in autopsy specimens. *Radiology*, 231, 675-81.
- LANGHEINRICH, A. C., KAMPSCHULTE, M., BUCH, T. & BOHLE, R. M. 2007a. Vasa vasorum and atherosclerosis - Quid novi? *Thromb Haemost*, 97, 873-9.
- LANGHEINRICH, A. C., MICHNIEWICZ, A., BOHLE, R. M. & RITMAN, E. L. 2007b. Vasa vasorum neovascularization and lesion distribution among different vascular beds in ApoE^{-/-}/LDL^{-/-} double knockout mice. *Atherosclerosis*, 191, 73-81.
- LANGHEINRICH, A. C., MICHNIEWICZ, A., SEDDING, D. G., LAI, B., JORGENSEN, S. M., BOHLE, R. M. & RITMAN, E. L. 2007c. Quantitative X-ray imaging of intraplaque hemorrhage in aortas of apoE^{-/-}/LDL^{-/-} double knockout mice. *Invest Radiol*, 42, 263-73.
- LANGHEINRICH, A. C., MICHNIEWICZ, A., SEDDING, D. G., WALKER, G., BEIGHLEY, P. E., RAU, W. S., BOHLE, R. M. & RITMAN, E. L. 2006. Correlation of vasa vasorum neovascularization and plaque progression in aortas of apolipoprotein E^{-/-}/low-density lipoprotein^{-/-} double knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26, 347-52.
- LAWALL, H. & DIEHM, C. 2008. Angiologie. *Med Klin (Munich)*, 103, 198-209.

- LERMAN, A. & RITMAN, E. L. 1999. Evaluation of microvascular anatomy by micro-CT. *Herz*, 24, 531-3.
- LIBBY, P. 2001. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*, 104, 365-72.
- LIBBY, P., RIDKER, P. M. & MASERI, A. 2002. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 105, 1135-43.
- LOFBERG, A. M., KARACAGIL, S., LJUNGMAN, C., WESTMAN, B., BOSTROM, A., HELLBERG, A. & OSTHOLM, G. 2001. Percutaneous transluminal angioplasty of the femoropopliteal arteries in limbs with chronic critical lower limb ischemia. *J Vasc Surg*, 34, 114-21.
- MANN, F. D. 1985. Vasa vasorum and coronary atherosclerosis. *Perspect Biol Med*, 28, 367-9.
- MARTIN, M. J., HULLEY, S. B., BROWNER, W. S., KULLER, L. H. & WENTWORTH, D. 1986. Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361,662 men. *Lancet*, 2, 933-6.
- MCGEACHIE, J., CAMPBELL, P., SIMPSON, S. & PRENDERGAST, F. 1982. Arterial vasa vasorum: a quantitative study in the rat. *J Anat*, 134, 193-7.
- MEHLER, P. S., COLL, J. R., ESTACIO, R., ESLER, A., SCHRIER, R. W. & HIATT, W. R. 2003. Intensive blood pressure control reduces the risk of cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease and type 2 diabetes. *Circulation*, 107, 753-6.
- MORENO, P. R. & FUSTER, V. 2004. New aspects in the pathogenesis of diabetic atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol*, 44, 2293-300.
- MORENO, P. R., PURUSHOTHAMAN, K. R., FUSTER, V., ECHEVERRI, D., TRUSZCZYNSKA, H., SHARMA, S. K., BADIMON, J. J. & O'CONNOR, W. N. 2004. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation*, 110, 2032-8.
- MOULTON, K. S. 2001. Plaque angiogenesis and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*, 3, 225-33.
- MOULTON, K. S., VAKILI, K., ZURAKOWSKI, D., SOLIMAN, M., BUTTERFIELD, C., SYLVIN, E., LO, K. M., GILLIES, S., JAVAHERIAN, K. & FOLKMAN, J. 2003. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 4736-41.
- NAGHAVI, M., LIBBY, P., FALK, E., CASSCELLS, S. W., LITOVSKY, S., RUMBERGER, J., BADIMON, J. J., STEFANADIS, C., MORENO, P., PASTERKAMP, G., FAYAD, Z., STONE, P. H., WAXMAN, S., RAGGI, P., MADJID, M., ZARRABI, A., BURKE, A., YUAN, C., FITZGERALD, P. J., SISCOVICK, D. S., DE KORTE, C. L., AIKAWA, M., AIRAKSINEN, K. E., ASSMANN, G., BECKER, C. R., CHESEBRO, J. H., FARB, A., GALIS, Z. S., JACKSON, C., JANG, I. K., KOENIG, W., LODDER, R. A., MARCH, K., DEMIROVIC, J., NAVAB, M., PRIORI, S. G., REKHTER, M. D., BAHR, R., GRUNDY, S. M., MEHRAN, R., COLOMBO, A., BOERWINKLE, E., BALLANTYNE, C., INSULL, W., JR., SCHWARTZ, R. S., VOGEL, R., SERRUYS, P. W., HANSSON, G. K., FAXON, D. P., KAUL, S., DREXLER, H., GREENLAND, P., MULLER, J. E., VIRMANI, R., RIDKER, P. M., ZIPES, D. P., SHAH, P. K. & WILLERSON, J. T. 2003. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II. *Circulation*, 108, 1772-8.
- NORGREN, L., HIATT, W. R., DORMANDY, J. A., NEHLER, M. R., HARRIS, K. A., FOWKES, F. G., BELL, K., CAPORUSSO, J., DURAND-ZALESKI, I., KOMORI, K., LAMMER, J., LIAPIS, C., NOVO, S., RAZAVI, M., ROBBS, J., SCHAPER, N., SHIGEMATSU, H., SAPOVAL, M., WHITE, C., WHITE, J., CLEMENT, D., CREAGER, M., JAFF, M., MOHLER, E., 3RD, RUTHERFORD, R. B., SHEEHAN, P., SILLESEN, H. & ROSENFELD, K. 2007. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 33 Suppl 1, S1-75.

- O'BRIEN, K. D., MCDONALD, T. O., CHAIT, A., ALLEN, M. D. & ALPERS, C. E. 1996. Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation*, 93, 672-82.
- OURIEL, K. 2001. Peripheral arterial disease. *Lancet*, 358, 1257-64.
- OUWENDIJK, R., KOCK, M. C., VAN DIJK, L. C., VAN SAMBEEK, M. R., STIJNEN, T. & HUNINK, M. G. 2006. Vessel wall calcifications at multi-detector row CT angiography in patients with peripheral arterial disease: effect on clinical utility and clinical predictors. *Radiology*, 241, 603-8.
- PANAYIOTOPOULOS, Y. P., TYRRELL, M. R., ARNOLD, F. J., KORZON-BURAKOWSKA, A., AMIEL, S. A. & TAYLOR, P. R. 1997. Results and cost analysis of distal [crural/pedal] arterial revascularisation for limb salvage in diabetic and non-diabetic patients. *Diabet Med*, 14, 214-20.
- PASTERKAMP, G., SCHONEVELD, A. H., HILLEN, B., BANGA, J. D., HAUDENSCHILD, C. C. & BORST, C. 1998. Is plaque formation in the common carotid artery representative for plaque formation and luminal stenosis in other atherosclerotic peripheral arteries? A post mortem study. *Atherosclerosis*, 137, 205-10.
- RITMAN, E. L., BOLANDER, M. E., FITZPATRICK, L. A. & TURNER, R. T. 1998. Micro-CT imaging of structure-to-function relationship of bone microstructure and associated vascular involvement. *Technol Health Care*, 6, 403-12.
- RITMAN, E. L. & LERMAN, A. 2007. The dynamic vasa vasorum. *Cardiovasc Res*, 75, 649-58.
- ROSE, S. C. 2000. Noninvasive vascular laboratory for evaluation of peripheral arterial occlusive disease: Part I--hemodynamic principles and tools of the trade. *J Vasc Interv Radiol*, 11, 1107-14.
- ROSS, R. 1999. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340, 115-26.
- RUDD, J. H., DAVIES, J. R. & WEISSBERG, P. L. 2005. Imaging of atherosclerosis -- can we predict plaque rupture? *Trends Cardiovasc Med*, 15, 17-24.
- SCHEINERT, D., SCHEINERT, S., SAX, J., PIORKOWSKI, C., BRAUNLICH, S., ULRICH, M., BIAMINO, G. & SCHMIDT, A. 2005. Prevalence and clinical impact of stent fractures after femoropopliteal stenting. *J Am Coll Cardiol*, 45, 312-5.
- SCHLAGER, O., FRANCESCONI, M., HAUMER, M., DICK, P., SABETI, S., AMIGHI, J., MLEKUSCH, W., KOPPENSTEINER, R., MINAR, E. & SCHILLINGER, M. 2007. Duplex sonography versus angiography for assessment of femoropopliteal arterial disease in a "real-world" setting. *J Endovasc Ther*, 14, 452-9.
- SCHOENENBERGER, F. & MUELLER, A. 1960. [On the vascularization of the bovine aortic wall]. *Helv Physiol Pharmacol Acta*, 18, 136-50.
- SCHRODER, F., DIEHM, N., KAREEM, S., AMES, M., PIRA, A., ZWETTLER, U., LAWALL, H. & DIEHM, C. 2006. A modified calculation of ankle-brachial pressure index is far more sensitive in the detection of peripheral arterial disease. *J Vasc Surg*, 44, 531-6.
- SCHUTTE, H. E. 1966. Plaque localization and distribution of vasa vasorum. A micro-angiological study of the human abdominal aorta. *Angiologica*, 3, 21-39.
- SHIBATA, T. & NAGANO, T. 1996. Applying very high resolution microfocus X-ray CT and 3-D reconstruction to the human auditory apparatus. *Nat Med*, 2, 933-5.
- SLEIGHT, P. 2000. The HOPE Study (Heart Outcomes Prevention Evaluation). *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 1, 18-20.
- STARY, H. C. 1992. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 421, 277-90.
- STARY, H. C. 2000. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 1177-8.

- STEINACKER, J. M. 2003. Körperliche Bewegung bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit: Schlusswort. *Dtsch Arztebl*, 100, 932-.
- STEWART, K. J., HIATT, W. R., REGENSTEINER, J. G. & HIRSCH, A. T. 2002. Exercise training for claudication. *N Engl J Med*, 347, 1941-51.
- SUTTON-TYRRELL, K., KULLER, L. H., MATTHEWS, K. A., HOLUBKOV, R., PATEL, A., EDMUNDOWICZ, D. & NEWMAN, A. 2002. Subclinical atherosclerosis in multiple vascular beds: an index of atherosclerotic burden evaluated in postmenopausal women. *Atherosclerosis*, 160, 407-16.
- VAN DER FEEN, C., NEIJENS, F. S., KANTERS, S. D., MALI, W. P., STOLK, R. P. & BANGA, J. D. 2002. Angiographic distribution of lower extremity atherosclerosis in patients with and without diabetes. *Diabet Med*, 19, 366-70.
- WEBER, G., BIANCIARDI, G., BUSSANI, R., GENTILINI, R., GIARELLI, L., NOVELLI, M. T., RESI, L., SALVI, M., SILVESTRI, F. & TANGANELLI, P. 1988. Atherosclerosis and aging. A morphometric study on arterial lesions of elderly and very elderly necropsy subjects. *Arch Pathol Lab Med*, 112, 1066-70.
- WERBER, A. H. & HEISTAD, D. D. 1985. Diffusional support of arteries. *Am J Physiol*, 248, H901-6.
- WILLIAMS, J. K., ARMSTRONG, M. L. & HEISTAD, D. D. 1988. Vasa vasorum in atherosclerotic coronary arteries: responses to vasoactive stimuli and regression of atherosclerosis. *Circ Res*, 62, 515-23.
- WILLIGENDAEL, E. M., TEIJINK, J. A., BARTELINK, M. L., KUIKEN, B. W., BOITEN, J., MOLL, F. L., BULLER, H. R. & PRINS, M. H. 2004. Influence of smoking on incidence and prevalence of peripheral arterial disease. *J Vasc Surg*, 40, 1158-65.
- WILSON, S. H., HERRMANN, J., LERMAN, L. O., HOLMES, D. R., JR., NAPOLI, C., RITMAN, E. L. & LERMAN, A. 2002. Simvastatin preserves the structure of coronary adventitial vasa vasorum in experimental hypercholesterolemia independent of lipid lowering. *Circulation*, 105, 415-8.
- WOLINSKY, H. & GLAGOV, S. 1967. Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circ Res*, 20, 409-21.
- YOUNG, J. L., LIBBY, P. & SCHONBECK, U. 2002. Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost*, 88, 554-67.
- ZEIHER, A. M., DREXLER, H., WOLLSCHLAGER, H. & JUST, H. 1991a. Endothelial dysfunction of the coronary microvasculature is associated with coronary blood flow regulation in patients with early atherosclerosis. *Circulation*, 84, 1984-92.
- ZEIHER, A. M., DREXLER, H., WOLLSCHLAGER, H. & JUST, H. 1991b. Modulation of coronary vasomotor tone in humans. Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation*, 83, 391-401.
- ZEIHER, A. M., SCHACHINGER, V. & MINNERS, J. 1995. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary arterial vasodilator function. *Circulation*, 92, 1094-100.

12 Publikationen

Schneider C., Burkhardt A., Szalay G., Dierkes C., Langheinrich A.

Quantifizierung der Vasa Vasorum in der peripheren Gefäßstrombahn humaner Unterschenkelamputate

91. Deutscher Röntgenkongress in Berlin, Mai 2010 Posterpräsentation

RöFo April 2010 Experimentelle Radiologie WI-PO 6

13 Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.

14 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. A. C. Langheinrich für die kontinuierliche intensive Betreuung und Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit, sowie für seine wertvollen Anregungen.

Ebenso möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Ch. Schneider für die Arbeit im CT und die Hilfe bis zur Fertigstellung dieser Arbeit bedanken.

Frau G. Martels aus dem Zentrum für Diagnostische Radiologie der Justus-Liebig-Universität Gießen danke ich für die zuverlässige und schnelle Bearbeitung der Proben am Mikro-Computertomographen, sowie für ihre hilfreichen Ideen bei der Auswertung ebenso wie für die Einarbeitung in das Bildanalyseprogramm ANALYZE®.

Einen weiteren Dank richte ich an alle Mitarbeiter des Pathologischen Instituts der Universitätsklinik Gießen für die histologische Aufarbeitung und die Hilfestellung bei der mikroskopischen Begutachtung und Analyse der Proben.

Auch bei meinen Doktorandenkollegen möchte ich mich für die Unterstützung und für die wunderbare Zeit die wir hatten bedanken.

Vielen Dank an meine Kollegen die mich auf dem Weg begleitet haben und allen die mich mit einer kreativen Dienstplangestaltung während des Studiums unterstützt haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden für die einzigartige Unterstützung.